Über die Analyse flüssiger Hustenmittel

Band 1 Systematischer Trennungsgang

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde

des Fachbereichs Pharmazie

der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Gudrun Stockmann

verehelichte Khammash

aus Tübingen

Berlin 1970

Über die Analyse flüssiger Hustenmittel

Band 1 Systematischer Trennungsgang

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
des Fachbereichs Pharmazie
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Gudrun Stockmann
verehelichte Khammash
aus Tübingen

Berlin 1970

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

als Dissertation angenommen am: 14. OKT. 1970

Tag der mündlichen Prüfung:

Tag der Promotion: 23. NOV. 1970

Berichterstatter: Prof. Dr. F. Eiden

Mitberichterstatter: Prof. Dr. G. Schenck

Die vorliegende Arbeit entstand auf Anregung und unter Leitung von Herrn Prof. Dr. F. Eiden an dem von ihm geleiteten Pharmazeutischen Institut der Freien Universität Berlin.

Für seine großzügige Förderung und Unterstützung meiner Arbeit und die zahlreichen wertvollen Diskussionen möchte ich an dieser Stelle herzlich danken.

Meinen Eltern

In Dankbarkeit gewidmet

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
Band 1	Systematischer Trennungsgang	
I.	Einleitung	9
II.	Ausarbeitung eines systematischen Trennungsganges	
	Inhaltsverzeichnis	16
	A Überlegungen und Versuche über Extraktion und dünnschichtchromatographische Identifizierung der Inhaltsstoffe flüssiger Hustenmittel	17
	B Überlegungen und Versuche über Extraktion und Identifizierung der ätherischen Öle, die in flüssigen Hustenmitteln enthalten sind	36
III.	Systematischer Trennungsgang	
	Inhaltsverzeichnis	49
	A Extraktion und dünnschichtchromatographische Identifizierung der Inhaltsstoffe	51
	B Extraktion und Identifizierung der ätherischen Öle	159
IV.	Anwendung des systematischen Trennungsganges am Beispiel der Analyse eines Hustensaftes	185
	Zusammenfassung	192
Band 2	Monographiensammlung	
	Alphabetisches Verzeichnis der Substanzen mit Angabe der Schmelz- und Siedepunkte des Verhaltens im variierten Stas-Otto-Gang und Abbildungen der UV-, IR- und NMR-Spektren mit Tabellen und Interpretationen	

I Einleitung

1. Husten und Hustenmittel

"Husten ist ein dynamischer Akt, bei dem Luft und Sekret durch schnelle peristaltische Wellenbewegungen der Bronchialschleimhaut nach außen gefördert werden". [1] Husten stellt so eine Schutzfunktion dar zur Reinigung der Atemwege und daneben eine Warnfunktion des Körpers vor schädigender Reizung durch inhalierte Chemikalien [x] und Fremdkörper. [2] Husten tritt bei einer großen Zahl und Vielfalt von Krankheitszuständen als z. T. chronisches Symptom auf und kann außerdem psychisch bedingt sein. Er dient dann oft nicht mehr seinem ursprünglichen Zweck als Schutzfunktion zur Entfernung intrabronchial befindlicher Fremdkörper. Bei längerem Anhalten kann "Gewöhnung" eintreten, der Patient nimmt seinen Husten nicht mehr wahr. Andererseits können empfindsame Patienten Intensität und Schwere ihrer Hustenattacken steigern. [2] Die Notwendigkeit der antitussiven Therapie ist daher in vielen Fällen unumstritten. [3] Die Therapie muß sich dabei in der Anwendung der Hustenpräparate nach der Art des Hustens richten (Reizhusten oder ungenügender Husten, zähes dickes oder reichliches dünnes Expectorat).

Das Ausmaß des Auftretens von Husten als Krankheitssymptom verdeutlichen folgende Zahlen: Der Anteil der Verschreibungen für Hustenmittel im britischen Health Service betrug 1958 11 Prozent, wertmäßig waren es 4 - 5 Prozent der gesamten Arzneikosten. [3] Chronische Bronchitis

---

1) H. Friebel in Handbuch der experimentellen Pharmakologie Band 16/2, Herausgeber O. Eichler, Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York, 1969, S. 21

2) ibid. S. 24

3) ibid. S. 25

x) Auf diesem Prinzip der Reizung von Chemorezeptoren basieren mehrere pharmakologische Tests zur Provokation von Husten. Siehe 3) ff.

gilt in der Rentenversicherung der Arbeiter als erste oder zweite Ursache der Frühinvalidität. [4] Eine von Ulmer et al. [5] durchgeführte Untersuchung in einer Großstadt des Ruhrgebiets ergab bei 37,7 Prozent der männlichen Bevölkerung jenseits des 55. Lebensjahres Bronchialerkrankungen mit atemmechanisch nachweisbaren Ausfallerscheinungen. Dementsprechend stark sind die Bemühungen der pharmazeutischen Industrie selektiv wirkende neue Arzneimittel zu entwickeln und auf den Markt zu bringen.

Die im Handel befindlichen Hustenmittel stellen meist Kombinationspräparate von Stoffen unterschiedlicher pharmakologischer Wirkung dar. Die wichtigsten verwendeten Arzneistoffgruppen sind Antitussiva, Expectorantien und Bronchialspasmolytica [6] neben Anthistaminica, Sedativa, Sulfonamiden, Lokalanästhetica und anderen Gruppen.

Antitussiva:

Das älteste und auch heute noch am häufigsten verwendete Antitussivum ist das im Opium enthaltene Codein. Es wirkt jedoch auch schwach analgetisch und zeigt weitere Nebenwirkungen wie leichte Atemdepression, Obstipation und Nausea.

Die Intentionen gingen nun dahin, Substanzen mit selektiver antitussiver Wirkung zu entwickeln. Ein klinisch sehr gut kontrolliertes synthetisches Morphinan stellt das Dextromethrophan [x] (Romilar®) dar, das antitussiv so stark wie Codein wirkt, ohne dessen Nebenwirkungen zu besitzen. [7]

---

4) H. Kinkel, Dtsch. med. Wschr. 88, 1991 (1963)

5) W. T. Ulmer, G. Reichel und U. Werner, Int. Arch. Gewerbepath., Gewerbehyg. 25, 75 (1968)

6) G. Reichel, Therapiewoche 15, 610 (1970)

7) J. H. Jaffe in The pharmacological Basis of Therapeutics, L. S. Goodman, A. Gilman, Ed., The Macmillan Company New York 1968, 3. Ed., 1968, S. 281

x) Interessant ist, daß das optische Isomere, Laevorphan, dagegen vor allem analgetisch wirkt und als Antitussivum nur die halbe Wirkung von Dextromethorphan besitzt.

Weitere Substanzen wie z. B. Clofedanol (Detigon®), Isoaminil [x] (Peracon®), Oxeladin, Pipazetat (Selvigon®) und Tussukal®[xx] sind ebenfalls gute Antitussiva ohne Nebenwirkungen. Beim Normethadon (Ticarda®) wird jedoch neben der antitussiven Wirkung schon in therapeutischen Dosen eine euphorisierende Wirkung beobachtet [8) 9)], es wird daher häufig zu Suchtzwecken mißbraucht. Obwohl von verschiedenen Autoren [7) 10)] betont wird, daß Codein selten zu Suchtzwecken gebraucht wurde, ist jetzt ein Ansteigen des Suchtmißbrauchs von Hustensäften, die Codein, Ephedrin und Alkaloide aus Ipecacuanhae (und ähnlich wirkende Substanzen) enthalten, beobachtet worden. [xxx] Der Verkauf solcher Hustensäfte an Jugendliche unter 18 Jahre wurde daher in den USA verboten [11)].

Expectorantien:

Dieser Begriff umfaßt die als Sekretolytica und Sekretomotorica bezeichneten Substanzen; sie sollen eine Verflüssigung und Steigerung des Bronchialsekrets verursachen. Über den Wirkungsmechanismus ist recht wenig bekannt; [12)] primär findet oft eine Magenschleimhautreizung statt, die reflektorisch eine Steigerung des Bronchialsekrets bewirkt. Die Auswahl dieser Arzneistoffe erfolgt meist empirisch. Seit Jahrhunderten werden auch völlig wirkungslose Substanzen verwendet. [13)]

---

8) F. Laubenthal, Sucht und Mißbrauch, Georg Thieme-Verlag Stuttgart 1964, S. 623

9) G. Kuschinsky und H. Lüllmann, Kurzes Lehrbuch der Pharmakologie, Georg Thieme-Verlag Stuttgart 1970, S. 138

10) s. 8) S. 622

11) Moniteur Pharm. Lab. 24, 111 (1970) ref. in österr. Apotheker-Ztg. 24, 249 (1970)

12) s. 9) S. 139

13) G. Hertting, österr. Apotheker-Ztg. 20, 827 (1966)

x) Auch für Isoaminil wurden Struktur-Wirkungsbeziehungen, jedoch für die Stellungsisomeren, entwickelt. S. S.

xx) Obwohl diese Substanz nur in Tabletten, nicht in flüssigen Hustenmitteln, enthalten ist, wurde sie, da sie ein ausgesprochenes Antitussivum darstellt, in diesem Trennungsgang bearbeitet.

xxx) Sicher auch wegen der zentral-erregenden Wirkung des Ephedrins.

Zu den Expectorantien gehören Substanzen wie Emetin, Ammoniumsalze, Kaliumjodid, Guajakolderivate (Guajakol selbst ist obsolet) und Saponine. Als synthetische Verbindung gehört hierher auch das Sekretolyticum Bisolvon®, daß der Wirkung des Emetins gleichkommt, ohne dessen Nebenwirkungen auf Herz und Kreislauf zu besitzen. [14]

Bronchospasmolytica:

G. Reichel [6] zählt hierzu die Sympathicomimetica, Purinkörper, und Stoffe mit spasmolytischer Wirkung wie Papaverin, Khellin. Parasympathicolytica - wie Atropin - die hierzu ebenfalls gehören, kommen nur als sehr schwache Pflanzenextrakte in flüssigen Hustenmitteln vor. Auch einige ätherische Öle (Ol. Thymi, Ol. Anisi und Ol. Eucalypti) sollen schwach spasmolytische Wirkung haben. [12] [15]

Antihistaminica:

Die Verwendung der Antihistaminica in Hustenmitteln, auch zur Behandlung allergischen Hustens, halten Doyle und Mehta [16] nicht für sinnvoll. Eine antitussive Wirkung der Antihistaminica ist nicht bekannt. Wenn diese Substanzen überhaupt wirken, dann wegen ihrer sedierenden und Atropin-ähnlichen Wirkungen.

Die übrigen erwähnten Substanzgruppen (S.10) treten in der Breite ihrer therapeutischen Verwendung zurück und sollen hier nicht besprochen werden.

2. Problemstellung der Arbeit

Für die im Handel befindlichen flüssigen Hustenmittel soll ein systematischer Trennungsgang erarbeitet werden, der es gestattet, alle Kompo-

---

14) E. Lindner und H. Lessenich in Arzneimittel, Entwicklung und Darstellung Band 1, Herausgeber G. Ehrhart und H. Ruschig, Verlag Chemie Weinheim (1968), S. 738

15) E. Mutschler, Arzneimittelwirkungen, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft MBH Stuttgart (1970) S. 94

16) F. P. Doyle und M. D. Mehta in Advances in Drug Research Band 1 N. J. Harper, A. B. Simmons, Ed., Academic Press London, New York 1964, S. 107

nenten - Arzneistoffe, Geschmackskorrigentien, Hilfsstoffe (s. unten) und Pflanzeninhaltsstoffe - zu isolieren, identifizieren und quantitativ zu bestimmen.

2.1. Zusammensetzung flüssiger Hustenmittel

Die Zusammensetzung flüssiger Hustenmittel wurde den Angaben von Rothgang [17], Helwig [18] und der "Roten Liste" [19] entnommen. Der Schwerpunkt wurde dabei auf Antitussiva und Expectorantien enthaltende Präparate gelegt. Spezielle Mittel zur Behandlung des Asthma bronchiale und obsolete Mittel wurden weitgehend ausgeklammert. Die Liste der untersuchten Substanzen wurde 1968 abgeschlossen. Die Inhaltsstoffe inzwischen neu erschienener Präparate können jedoch mit entsprechenden Vergleichssubstanzen auch nach dem Schema dieses Ganges identifiziert werden.

Beim Erfassen der pflanzlichen Extrakte ergab sich eine solche Vielfalt verarbeiteter Pflanzen und angewandter Extraktionsmethoden, daß diese Untersuchung sich auf die am häufigsten vorkommenden ätherischen Öle beschränken mußte (s. S. 159).

Die Tatsache, daß Hilfsstoffe - wie Konservierungsstoffe oder Detergentien - und Geschmackskorrigentien - wie ätherische Öle, Zucker, Süßstoffe - nicht deklariert werden müssen, kann die Durchführung einer Analyse erschweren. In dieser Hinsicht wäre ein Deklarationszwang wünschenswert.

---

17) H. Rothgang, Spezialitätenpraktikum, Gebr. Parcus KG. München, 3. Aufl. 1967/68

18) B. Helwig, Moderne Arzneimittel, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft MBH Stuttgart, 3. Aufl., 1967

19) Rote Liste 1967, Editio Cantor, Aulendorf

2.2. Methoden zur Analyse größerer Substanzgruppen

Zur Analyse größerer Substanzgruppen bedarf es relativ spezifischer Methoden, wie sie die spektroskopischen und chromatographischen Verfahren darstellen.

Bradford und Brackett [20] stellten einen umfassenden Trennungsgang auf zur UV-spektroskopischen Bestimmung zahlreicher, durch Extraktion bei verschiedenen pH-Werten vorgetrennter, Substanzen. Durch die tatsächliche Auftrennung sind demgegenüber chromatographische Methoden spezifischer und es gibt zahlreiche Arbeiten über die chromatographische Auftrennung großer Arzneistoffgruppen. Macek et al. [21] arbeiteten ein papierchromatographisches Verfahren aus zur Auftrennung von 66 Alkaloiden, das von Waldi [22] modifiziert wurde, der auch erstmals die Ergebnisse als chromatographische Profile (s. S. 35) darstellte. Jackson [23] erarbeitete eine Kombination von Extraktionen bei verschiedenen pH-Werten und papierchromatographischer Trennung. Erwähnt seien noch die Verfahren von Vidic und Schütte [24] sowie Macek et al. [25], die nach vorheriger Extraktion und Aufteilung in mehrere Gruppen diese kombiniert papier- und dünnschichtchromatographisch untersuchten.

Ausschließlich dünnschichtchromatographische Trennungen führten u. a. Waldi et al. [26] mit 54 Alkaloiden, Schulze [27] mit 56 Phenothiazinderivaten und Sunshine et al. [28] mit 138 basischen Arzneistoffen durch. Be-

---

20) L. W. Bradford und J. W. Brackett, Mikrochim. Acta 353 (1958)

21) K. Macek, J. Hacaperkova und B. Kakac, Pharmaz. 11, 533 (1956)

22) D. Waldi, Arch. Pharmaz. 292, 206 (1959)

23) J. V. Jackson, Proc. Ass. clin. Biochem. 2, 128 (1963)

24) E. Vidic und J. Schütte, Arch. Pharmaz. 295, 342 (1962)

25) K. Macek, J. Vecerkova und J. Stanislavova, Pharmaz. 20, 605 (1965)

26) D. Waldi, K. Schnackerz und F. Munter, J. Chromatogr. 6, 61 (1961)

27) Dissertation W. Schulze, Braunschweig 1962

28) I. Sunshine, W. W. Fike und H. Landesman, J. Forensic Sci. 11, 428 (1966)

ziehungen zwischen Struktur und chromatographischem Verhalten der Substanzen der zuletzt erwähnten Arbeit versuchte Fike [29] aufzustellen. Thomas und Dryon [30] bearbeiteten dünnschichtchromatographisch und UV-spektroskopisch das Verhalten einer Gruppe psychotroper Arzneistoffe.

Neu an dem von mir bearbeitetem Analysengang ist die durch die Praxis vorgegebene fixierte Zusammenstellung der Substanzen.[x] Ich entschied mich für eine Einteilung in Gruppen durch Extraktion der Probelösung bei verschiedenen pH-Werten und nachfolgender dünnschichtchromatographischer Identifizierung, die durch Vergleich mit den UV-, IR- und NMR-Spektren der Substanzen bestätigt werden kann. Davon getrennt sollte ein Verfahren zur Extraktion und IR-spektroskopischen und gaschromatographischen Identifizierung ätherischer Öle ausgearbeitet werden.

---

29) W. W. Fike, Analytic. Chem. 38, 1697 (1966)

30) J. H. Thomas und L. Dryon, J. Pharmac. Belgique 19, 481 (1964)

x) Für die freundliche Überlassung zahlreicher Reinsubstanzen danke ich den jeweiligen Herstellern.

Seite

II. Ausarbeitung eines systematischen Trennungsganges

Inhaltsverzeichnis

A Überlegungen und Versuche über Extraktion und dünnschichtchromatographische Identifizierung der Inhaltsstoffe flüssiger Hustenmittel

1.	Bedingungen des variierten Stas-Otto-Ganges	17
1.1.	Variationen des Stas-Otto-Ganges	17
1.2.	Ermittlung der Verteilung der Substanzen auf die einzelnen Fraktionen	18
1.2.1.	Gravimetrische Bestimmungen	19
1.2.2.	Titrimetrische Bestimmungen	20
1.2.3.	Photometrische Bestimmungen	23
2.	Chromatographische Bedingungen	27
2.1.	Einfluß einiger Faktoren auf chromatographische Vorgänge und deren Reproduzierbarkeit	27
2.2.	Methoden zur gezielten chromatographischen Auftrennung	29
2.3.	Einfluß von Schichtdicken und Fertigplatten auf hR_f-Werte	31
2.4.	Auswahl der Reagenzien zur Detektion	34
2.5.	Auswertung und Darstellung der chromatographischen Ergebnisse	35

B Überlegungen und Versuche über Extraktion und Identifizierung der ätherischen Öle, die in flüssigen Hustenmitteln enthalten sind

1.	Problemstellung	36
2.	Versuche zur Extraktion	36
2.1.	Perforation einer sauren wässrigen Lösung	36
2.2.	Wasserdampfdestillation	40
2.3.	Ionenaustausch	41
2.4.	Ionenaustausch kombiniert mit Perforation	42
2.5.	Ionenaustausch und Perforation in Gegenwart von Lösungsvermittlern	45
3.	Identifizierung der aufbereiteten Öle	45

II Ausarbeitung eines systematischen Trennungsganges

A Überlegungen und Versuche über Extraktion und chromatographische Identifizierung der Inhaltsstoffe flüssiger Hustenmittel

1. Bedingungen des variierten Stas-Otto-Ganges

1.1. Variationen des Stas-Otto-Ganges

Ein optimaler Trennungsgang für eine Stoffgruppe bestimmter Zusammensetzung sollte folgende Forderungen erfüllen:

1. die verwendeten Lösungsmittel und Reagenzien sollen möglichst ungefährlich und wenig toxisch sein.
2. die in der Probe enthaltenen Stoffe sollen vollständig extrahier werden, der Rückstand soll also möglichst wenige Substanzen enthalten.
3. die extrahierten Stoffe sollen in möglichst gleich großen Gruppen in den einzelnen Fraktionen anfallen.
4. die einzelnen Substanzen sollen jeweils nur in einer Fraktion auftreten.

In der Praxis können meist nicht alle Forderungen erfüllt werden, es gilt also die Zahl der nötigen Kompromisse zu begrenzen. Der sonst zu Extraktionen viel verwendete Diäthyläther wurde wegen seiner Explosionsgefahr von den Versuchen ausgeschlossen, außerdem können die in ihm enthaltenen Peroxide eine schnellere Zersetzung empfindlicher Substanzen z. B. der Phenothiazine bewirken. Die Extraktionsversuche wurden deshalb zuerst mit Methylenchlorid - wegen des niedrigeren Siedepunktes im Vergleich zum sonst häufig verwendeten Chloroform durchgeführt. Diese Versuche, die salzsauren und weinsauren Probelösungen nur mit Methylenchlorid zu extrahieren, zeigten jedoch, daß einige Substanzen nicht vollständig extrahiert wurden: z. B. Sulfacetamid nur zu 45 % und Saccharin-Natrium nur zu 64 %. Erst bei Versuchen mit Methylenchlorid und einem Methylenchlorid-Isopropanol-Gemisch (3 : 1) gelang die vollständige Extraktion bei den verschiedenen pH-Werten.

Schwerer zu erfüllen sind die Forderungen drei und vier. Dadurch, daß Isopropanol in allen Fraktionen zur Extraktion benutzt wird, fallen nämlich einige Substanzen, die bei Trennungsgängen anderer Autoren [25] zu den alkalischen Fraktionen gehören (z. B. Diphenhydramin, Narcein, Normethadon, Papaverin), schon in den sauren Fraktionen an (dafür fallen bei den Trennungsgängen dieser Autoren die meisten Substanzen in den alkalischen Fraktionen an, wodurch diese Gruppen dann sehr groß sind). Die salzsaure Fraktion enthält demnach bei dem hier aufgestellten Trennungsgang sehr viele Substanzen. Die daraus resultierende Forderung, einer weiteren Auftrennung - z. B. der Trennung der Neutralstoffe von Säuren und Basen - nahm ich jedoch nicht vor, da sich einerseits Neutralstoffe, Säuren und Basen in ihrem chromatographischen Verhalten sehr gut unterscheiden und sich andererseits beim weiteren Auftrennen die Gefahr des Verschleppens vergrößert. Um Forderung 3 zu entsprechen, müßten die pK-Werte aller Substanzen ermittelt werden, um dann die Bedingungen des Stas-Otto-Ganges entsprechend darauf einzustellen.

Zum Einstellen von pH 1 wurde Salzsäure eingesetzt, da das Calcium-Salz der Kreosolsulfonsäure mit Schwefelsäure einen Niederschlag bildet, der starke Emulsionsbildung bewirkt.

Es resultierte so die auf S. 51 angegebene Vorschrift zur Extraktion einer zu untersuchenden Probe mit der daraus entstehenden Auftrennung der Substanzen in 5 Fraktionen.

1. 2. Ermittlung der Verteilung der Substanzen auf die einzelnen Fraktionen

Die unter III A 1. 2. S. 53 angegebene quantitative Verteilung der Substanzen auf die einzelnen Fraktionen des Stas-Otto-Ganges wurde mit Bestimmungen gravimetrischer, titrimetrischer und photometrischer Art ermittelt. Im allgemeinen wurden wegen ihrer Einfachheit gravi-

metrische Bestimmungen durchgeführt; wenn es sich jedoch um leichtzersetzliche oder wasserdampfflüchtige Substanzen handelte oder die Gravimetrie keine brauchbaren Ergebnisse lieferte, wurde auf die anderen Methoden zurückgegriffen.

1.2.1. Gravimetrische Bestimmungen

Die ihrer Konzentration in 25 ml Hustensaft oder 2 - 3 ml Hustentropfen entsprechende Menge an Substanz wurde in 25 ml dem. Wasser gelöst und der Extraktion nach dem variierten Stas-Otto-Gang (S. 51) unterworfen. Bei einigen Substanzen - z. B. Emetin, Narcein - wurde eine größere Menge eingewogen, da die Konzentration dieser Substanzen in den im Handel befindlichen Präparaten zu gering ist für eine gravimetrische Bestimmung.

Die filtrierten Extrakte wurden in 100 ml Abdampfschalen (bei 105 - 110 ^{o}C konstant getrocknet), auf einem Wasserbad abgedampft, 30 Minuten im Trockenschrank bei 105 - 110 ^{o}C getrocknet und nach dem Abkühlen im Exsikkator auf einer Analysenwaage (5 Stellen nach dem Komma) genau gewogen.

In einem Blindversuch wurden 20 Schalen auf die gleiche Weise behandelt, jedoch ohne Substanzen einzusetzen. Die dabei ermittelte durchschnittliche Gewichtszunahme betrug 0, 64 mg. Dieser Wert wurde von den Substanzauswagen als Korrektur abgezogen.

Variation der gravimetrischen Bestimmung der Substanzen:

Campher, Eucalyptol, Menthol und Thymol.

Diese Substanzen waren mit der oben beschriebenen Methode nur zum Teil zu erfassen, die Extrakte wurden daher bei Zimmertemperatur unter einem Abzug stehen gelassen. Nach zwei bis drei Stunden waren die Rückstände getrocknet und die Schalen wurden ausgewogen.

1.2.2. Titrimetrische Bestimmungen

Titration mit wasserfreier Perchlorsäure in Eisessig:

Dextromethorphan und Normethadon

Die gravimetrische Bestimmung lieferte für Dextromethorphan Werte von etwa 118 % und für Normethadon von etwa 115 %. Ich versuchte deshalb, den Gehalt dieser Substanzen durch eine Titration zu bestimmen:

Lösungen:

wasserfreie Essigsäure

0,01 n $HClO_4$ in wasserfreier Essigsäure F = 1,056
(eingestellt mit Kaliumhydrogenphthalat)

Lösung von 0,3 g Kristallviolett in Essigsäure

Lösung von 3,0 g Quecksilberacetat in Essigsäure

Die nach dem variierten Stas-Otto-Gang erhaltenen Extrakte wurden am Rotationsverdampfer eingedampft, der Rückstand in 25 ml wasserfreier Essigsäure gelöst und mit Perchlorsäure gegen Kristallviolett (2 Tropfen) titriert. Schon nach Zusatz von 2 - 3 ml der Perchlorsäurelösung zu der Lösung des Extraktes der HCl-Fraktion schlug die Farbe des Indikators von violett nach blaugrün um. Ich setzte daher 2 ml der Quecksilberacetat-Lösung zu, wobei die Farbe des Indikators wieder nach violett umschlug, die Titration wurde dann zu Ende geführt bis zum Umschlag nach blaugrün. Ein Zusatz von Quecksilberacetat zu den Lösungen der Extrakte der übrigen Fraktionen bewirkte keine Änderung des Titrationsergebnisses.

		Einwaage/mg	entspricht Base/mg	MG Base
Dextromethorphan-	1.	50,50	38,80	271,41
hydrobromid	2.	50,55	38,83	
Normethadon-	3.	51,28	45,65	295,43
hydrochlorid	4.	50,38	44,50	

	HCl-Fraktion		WS-Fraktion		NaOH-Fraktion		NH_3-Fraktion	
	ml	mg	ml	mg	ml	mg	ml	mg
1.	12,75	36,50	0,2	0,6	-	-	-	-
2.	12,85	36,80	0,2	0,6	-	-	-	-
3.	14,40	44,9	-	-	-	-	-	-
4.	14,00	43,6	-	-	-	-	-	-

Summe in mg 1. 37,1 2. 37,4 3. 44,9 4. 43,6

Summe in % 95,7 96,4 98,4 98,0

Der Grund für den Quecksilberacetatzusatz wird auf S. 155 diskutiert.

Acidimetrische und alkalimetrische Titrationen in wässriger Lösung:

Benzoesäure

MG 122.12

Lösungen:

0,1 n Natronlauge F = 1,000 1 %ige Lösung von Phenolphthalein

0,1 n Schwefelsäure F = 1,000 in 70 % v/v Äthanol

Der Extrakt der HCl- und der WS-Fraktion wurde in einem Überschuß von 10 ml Natronlauge gelöst und nach Zusatz von 2 Tropfen Indikatorlösung mit Schwefelsäure zurücktitriert.

Einwaage/mg	HCl-Fraktion		WS-Fraktion		Summe	
	ml	mg	ml	mg	mg	%
50,07	4,00	48,8	praktisch null		48,8	97,6

Die Angabe von 4,00 ml bezieht sich auf die tatsächlich verbrauchte Menge Natronlauge.

Bernsteinsäure und Doxylaminsuccinat

MG. 118.09

Lösungen

0,025 n Natronlauge

Phenolphthaleinlösung s. o.

Bernsteinsäure: Der Extrakt der HCl- und der WS-Fraktion wurde in 10 ml heißem Wasser gelöst und mit Natronlauge titriert.

Einwaage/mg	HCl-Fraktion		WS-Fraktion		Summe	
	ml	mg	ml	mg	mg	%
18,45	3,68	5,42	2,95	4,36	9,78	53,0
18,87	3,71	5,48	3,10	4,49	9,97	52,8

Doxylaminsuccinat: Die Extrakte der einzelnen Fraktionen wurden wie bei der gravimetrischen Bestimmung geschildert ausgewogen. Die Rückstände der HCl- und der WS-Fraktion wurden mit 10 ml heißem Wasser soweit wie möglich gelöst, nach dem Abkühlen mit 10 ml Chloroform versetzt und mit Natronlauge gegen Phenolphthalein unter kräftigem Schütteln titriert. Um die tatsächlich extrahierte Menge Base zu erhalten, wurde die durch die Titration ermittelte Menge Bernsteinsäure von der ausgewogenen Menge abgezogen.

Einwaage/mg	entspricht mg Base	mg Säure
61,65	42,90	18,74

	HCl-Fraktion		WS-Fraktion		NaOH-Fraktion		NH_3-Fraktion	
	ml	mg	ml	mg	ml	mg	ml	mg
Auswaage		6,62		12,32		-		32,85
titriert	4,33	6,40	3,62	5,35	-	-	-	-
extrahierte Base	-	-		6,97		-		32,85

Es wurden extrahiert	mg	%
Base	39,82	92,8
Bernsteinsäure	11,75	62,7

1.2.3. Photometrische Bestimmungen

Die Messung und Auswertung erfolgte nach den Band 2 S. 123 ff. geschilderten Bedingungen unter Zuhilfenahme der dort wiedergegebenen Eichgeraden

Anethol

Die Extrakte der einzelnen Fraktionen wurden am Rotationsverdampfer eingedampft und die Rückstände in 50 ml Methanol gelöst.

Einwaage: 25 mg Verd. = Verdünnung der methanolischen Lösung

HCl-Fraktion			WS-Fraktion			Summe	
Verd.	E	mg	Verd.	E	mg	mg	%
1:100	0,400	13,6	1:10	0,260	9,0	22,6	90,5

Die Extinktionen der NaOH- und NH_3-Extrakte waren unter 0,02.

Guajakol

Die Extrakte der einzelnen Fraktionen wurden unter Nachspülen in 250 ml Meßkolben überführt und die Kolben aufgefüllt mit einer Mischung Methylenchlorid : Isopropanol 7 : 1.

Einwaage 63,67 mg HCl-Fraktion

Verdünnung	E	mg	%
1:10	0,817	58,0	90,8

Die Extinktionen der übrigen Extrakte waren unter 0,02.

Tussukalsalicylat

Die Extrakte der Fraktionen wurden in ausgewogenen Kolben am Rotationsverdampfer verdampft und die Kolben dann zurückgewogen. Die in 250 ml Methanol gelösten Rückstände wurden bei λ = 305 nm photometrisch bestimmt.

Um die tatsächlich extrahierte Menge Base zu erhalten, wurde die photometrisch ermittelte Menge Salicylsäure von der ausgewogenen Menge abgezogen.

	HCl-Fraktion			WS-Fraktion		
	Verd.	E	mg	Verd.	E	mg
Auswaage			46,06			3,58
photometr. Bestimmung	1:2	0,874	15,06	-	unter 0,1 -	
extrahierte Base			31,00			3,58

In der NaOH- und der NH_3-Fraktion fiel keine Substanz an.
Es wurden also extrahier:

	mg	%
Base	34,58	99,2
Salicylsäure	15,06	92,3

Cholinsalicylat

2,25 g einer 50 %igen Lösung von Cholinsalicylat in Wasser wurden mit Wasser auf 25 ml verdünnt und nach dem variierten Stas-Otto-Gang extrahiert. Die Extrakte der HCl- und der WS-Fraktion wurden am Rotationsverdampfer eingedampft, in 100 ml Methanol gelöst und bei 305 nm photometrisch bestimmt.

Einwaage: 1,125 g Cholinsalicylat entspricht 0,645 g Salicylsäure

HCl-Fraktion			WS-Fraktion		
Verd.	E	mg Säure	Verd.	E	mg Säure
1:50	0,461	78	1:100	0,318	106

Das UV-Spektrum des WR zeigt die gleichen charakteristischen Maxima wie die methanolische Lösung von Salicylsäure. Da es sich jedoch um eine wässrige Lösung handelte, konnte keine quantitative Bestimmung vorgenommen werden, da sich Salicylsäure in Wasser nicht genügend löst.

Ephedrin, Ephetonin, Etafedrin, N-Methylephedrin, Orciprenalin, Pentoxyverin und Phenylephrin.

Lösung:

0,1 n Schwefelsäure

Die Extrakte der einzelnen Fraktionen der Substanzen wurden 4 mal mit je 10 bis 20 ml der Schwefelsäure extrahiert, die sauren Extrakte wurden vereinigt und auf 50 oder 100 ml aufgefüllt.
Auch der wässrige Rückstand wurde jeweils nach Einstellen von pH 1 photometrisch bestimmt. Die in der Tabelle angegebenen Werte für die gefundenen Mengen wurden auf das zur Bestimmung eingesetzte Salz berechnet.

Abkürzungen zur Tabelle:
u = unter
Lsg. = Lösung

Substanz gefund. Einwaage / Menge in mg	WS-Fraktion ml/E Lösung	entspr. mg	NaOH-Fraktion ml/E Lösung	entspr. mg	NH_3-Fraktion ml/E Lösung	entspr. mg	wässr. Rückstand ml/E Lösung	entspr. mg
Ephedrin. HCl								
50,78 / 46,0=90,6 %	100 / u0,02	-	100 / 0,443	46,0	100 / u0,02	-	50 / u0,02	-
Ephetonin. HCl								
53,92 / 51,0=92,9 %	100 / u0,02	-	100 / 0,488	51,0	100 / u0,02	-	50 / u0,02	-
Etafedrin. HCl								
71,04 / 67,6=95,1 %	100 / 0,043	5,0	100 / 0,532	62,6	100 / u0,02	-	50 / u0,02	-
N-Methylephedrin. HCl								
65,37 / 62,2=95,2 %	50 / u0,02	-	100 / 0,561	62,6	100 / u0,02	-	50 / u0,02	-
Orciprenalinsulfat								
32,75 / 31,45=95,9 %	50 / u0,02	-	50 / u0,02	-	50 / 0,792	5,65	200 / 0,905	25,8
Phenylephrin. HCl								
36,62 / 33,60=91,9 %	100 / u0,02	-	100 / u0,02	-	100 / 0,840	9,80	100 / 0,557 (Verdünnung 1:4)	23,8
Suprifen. HCl								
53,05 / 51,56=92,2 %	100 / u0,02		100 / u0,02	-	100 / 0,193	3,0	100 / 0,562 (Verdünnung 1:5)	45,9
Pentoxyverin-Base								
51,97 / 48,85=95,9 %	50 / u0,02	-	50 / u0,02	-	50 / u0,02		50 / u0,02	-
HCl-Fraktion	50 / 0,626	49,85						

2. Chromatographische Bedingungen

Die Chromatographie ist eine physikalische Trennmethode, bei der die zu trennenden Substanzen durch Adsorption oder Lösung auf zwei nicht mischbare Phasen verteilt werden, von denen die eine stationär ist und eine möglichst große Oberfläche besitzt, während die zweite eine bewegliche Phase ist, welche die stationäre Phase intensiv durchströmt. [31]

2.1. Einfluß einiger Faktoren auf chromatographische Vorgänge und deren Reproduzierbarkeit

Das Prinzip der Nichtmischbarkeit und das Konstanthalten der Zusammensetzung der beiden Phasen vor und während des chromatographischen Vorgangs sind bei der Gaschromatographie weitgehend gewährleistet, während bei der Dünnschichtchromatographie die Verhältnisse komplizierterer Natur sind. Geiss und Schlitt [32] betonen die Bedeutung der Art der Vorbeladung (Sorption) der Schicht mit Molekülen des Fließmittels und trennen die Begriffe Fließmittel und mobile Phase scharf voneinander ab. Die Zusammensetzung der mobilen Phase kann, wie Geiss, Sandroni und Schlitt [33] durch Versuche ermittelten, sich von der durch den Experimentator bestimmten Zusammensetzung des Fließmittels stark unterscheiden und auch die Zusammensetzung der mobilen Phase in verschiedenen Höhen der Platte kann stark variieren bis im Extremfall Entmischung eintritt (vor allem beim Arbeiten mit Sandwich-Kammern und Fließmittelkomponenten stark unterschiedlicher Polarität). Diese Effekte sind zwar beim Arbeiten mit Kammersättigung schwächer

---

31) H. Farnow, Gaschromatographie, Sonderband der Fa. Dragoco, Holzminden

32) F. Geiss und H. Schlitt, Chromatographia 1, 392 (1968)

33) F. Geiss, H. Sandroni und H. Schlitt, J. Chromatogr. 44, 290 (1969)

ausgeprägt als beim Arbeiten ohne Sättigung, aber auch dann noch meßbar. Auch die Zusammensetzung des flüssigen Anteils des vorbeladenen Sorbens ist stärkeren Schwankungen unterworfen bis der Zustand der sorptiven Schichtsättigung erreicht ist; dann bleibt die Zusammensetzung des flüssigen Anteils der stationären Phase konstant. Dieser Zustand der sorptiven Sättigung kann nach wenigen Minuten erreicht sein, z. B. beim Wasserdampf-Kieselgel-System, aber für Kohlenwasserstoffe ein Vielfaches der Zeit, oft bis zu Tagen, beanspruchen [34], so daß bei den üblichen kurzen Entwicklungszeiten, die ja einen entscheidenden Vorteil der Dünnschichtchromatographie darstellen, dieser Zustand der sorptiven Sättigung in den seltensten Fällen erreicht ist. Um reproduzierbare Gleichgewichtsbedingungen zu schaffen, müßten die Platten entsprechend lange vorbedampft werden, was ja das Prinzip der KS-Variokammer darstellt. [32]

Die Wechselwirkungen zwischen vorbeladenem Sorbens und mobiler Phase können auch zur Ausbildung von sogenannten β-Gradienten [32] führen, wenn die mobile Phase polarer ist. Diese schiebt dann die unpolaren, aus dem Fließmittel stammenden, Moleküle der vorbeladenen Schicht vor sich her.

Meine Versuche, hR_f-Werte, die bei Raumtemperaturen von 20 - 23 °C ermittelt wurden, bei Raumtemperaturen von 29 - 34 °C zu reproduzieren, führten zu keinem Ergebnis; die von mir gefundenen Werte lagen bei den höheren Temperaturen bis zu 15 mm höher und zwar von Substanz zu Substanz recht unterschiedlich. Dabei zeigten aus verschiedenen Komponenten zusammengesetzte Fließmittel im Durchschnitt stärkere Schwankungen als Einkomponentenfließmittel. Diese Resultate bestätigen die kurzen Ausführungen über die komplizierten Temperatur- und Luftfeuchtigkeitsempfindlichen Adsorptions- und Desorptions-, Mischungs- und Entmischungsvorgänge und legen den Schluß nahe, alle Manipulationen

---

34) F. Geiss und H. Schlitt, Chromatographia 1, 387 (1968)

maximal zu standardisieren. Dies kann durch entsprechende Vorbedampfung über Schicht geschehen [32) 35)], wie auch durch äußerstes Konstanthalten der übrigen Bedingungen, z. B. Korngröße [36)], Luftfeuchtigkeit, Entwicklungszeit [37)] usw. Dies erfordert jedoch einen relativ großen Aufwand; ein Kompromiß, den z. B. die in dieser Arbeit angewendeten chromatographischen Bedingungen (s. S. 65) darstellen, schließt dann natürlich eine größere Fehlergrenze beim Reproduzieren der hR_f-Werte ein. Bezüglich der beim Nacharbeiten möglichen Reproduzierbarkeit siehe auch [38)].

2. 2. Methoden zur gezielten chromatographischen Auftrennung

Die auf S. 27 gegebene Definition der Chromatographie schließt die wichtigsten Grundprinzipien, Adsorption und Verteilung mit ein. Entscheidend hierfür sind Aktivität der Sorbentien und Polarität bzw. H-Donator- oder Acceptoreigenschaften der Fließmittel. Mit der Aktivität parallel geht die Kapazität des Sorbens [26)]; da die Aktivität bei Verteilungsmechanismen abnimmt, sinkt die maximale Auftragemenge der Substanzen, die Fleckenformen sind meist nicht rund, sondern länglich und zeigen oft starke Schwanzbildung.

In der Praxis handelt es sich meist um Mischtypen von Adsorptions- und Verteilungsmechanismen, bei denen das eine oder das andere Prinzip überwiegt. Beim Übergang von möglichst reiner Adsorptions- zu möglichst reiner Verteilungschromatographie kann es zur Umkehr der Reihenfolge der hR_f-Werte von Substanzen oder Substanzgruppen kommen, wie bei dem von mir verwendeten Fließmittel 10 s. S. 67 . Auch bei den hier nicht verwendeten Polyamid-Schichten ist eine solche Um-

35) R. A. de Zeeuw, J. Chromatogr. 48, 27 (1970)

36) W. Ebing, ibid. 44, 81 (1969)

37) Von Vorteil ist die Verwendung azeotroper Fließmittel: E. Röder, E. Mutschler, H. Rochelmeyer, Arch. Pharmaz. 301, 624 (1968) 1. Mitteilung.

38) III. Internat. Symposium über Reproduzierbarkeit in PC und DC in J. Chromatogr. 33 (1968)

kehr möglich [39], der Effekt beruht dabei jedoch auf einer Phasenumkehr von hydrophober zu hydrophiler mobiler Phase, wobei in beiden Fällen der Verteilungsmechanismus dominiert.

Weitere Maßnahmen zum Erreichen gezielter Auftrennungseffekte sind Auswahl der Sorbentien und Fließmittel in bezug auf ihre basischen oder sauren Eigenschaften. Saure Sorbentien (Kieselgel) erfordern Zusatz von Basen zum Fließmittel, um basische Substanzen gut zu trennen. Neutrale Fließmittel bewirken oft starke Schwanzbildung. Bei neutralen Sorbentien (Aluminiumoxid neutral) und vor allem bei alkalischen Sorbentien (Aluminiumoxid basisch und mit Natronlauge imprägniertes Kieselgel) kann der Basenzusatz verringert werden. Bei Verwendung polarer saurer Fließmittel, in denen die Basen überwiegend als Salze laufen, zeigen die Fleckenformen der Basen meist unerwünschte Schwanzbildungen. Säuren wiederum laufen am weitesten auf sauren Sorbentien mit sauren Fließmitteln, in alkalischen Fließmitteln bleiben sie, je nach Polarität von Sorbens, Fließmittel und Substanz am Start oder sie laufen mit mehr oder weniger starker Schwanzbildung als Salze. Neutralstoffe werden von einer sauren oder basischen Natur von Sorbens und Fließmittel kaum beeinflußt.

Diese Prinzipien wurden alle bei der Auftrennung der durch den variierten Stas-Otto-Gang gegebenen Fraktionen angewendet, es wurde so versucht, die charakteristischen chromatographischen Eigenschaften der Substanzen hervorzuheben. In jeder Fraktion wurden dementsprechend systematische Abänderungen von in der Literatur verwendeten Fließmitteln vorgenommen und jeweils 30 - 50 Fließmittel auf ihre chromatographischen Eigenschaften in bezug auf die anfallenden Substanzen hin untersucht. Um jedoch die chromatographische Auftrennung nicht zu aufwendig zu gestalten, mußten von dieser Vielfalt an Trennungsmöglichkeiten viele Fließmittel, die für spezielle, charakteristische Auftrennungen geeignet wären, weggelassen werden zugunsten solcher, die allgemeinere Anwendung zulassen.

---

39) H. Wagner, L. Hörhammer und K. Macek, ibid. 31, 455 (1967)

2.3. Einfluß von Schichtdicken und Fertigplatten auf hR_f-Werte

Die Vorversuche zur Ermittlung geeigneter Fließmittel und die Versuche, reproduzierbare hR_f-Werte zu erhalten, wurden zuerst mit selbstbeschichteten Platten durchgeführt, nur beim Bearbeiten des wässrigen Rückstandes wurden bei Vor- und Hauptversuchen, soweit möglich, Fertigplatten verwendet. Nach Bearbeiten der HCl-, WS-, NaOH- und NH_3-Fraktionen stellte sich bei genauer Kontrolle der Schichtdicken der selbstbestrichenen Platten heraus, daß das bis dahin verwendete, nur zur Herstellung von 0,25 mm dicken Schichten anzuwendende Gerät von Desaga Schichten lieferte, deren Dicke unter 0,25 mm lag (im feuchten Zustand des Sorbens). Die inneren Wände des Geräts wurden zum Teil von Wasser nicht benetzt, der exakte Grund für diesen Fehler muß jedoch noch festgestellt werden. Die mit diesem Gerät ermittelten Werte sind jeweils unter b inden Tabelle angegeben. [x] Darauf wurden die hR_f-Werte der Substanzen aller Fraktionen erneut ermittelt und zwar auf selbstbeschichteten Platten (mit einem Desaga-Streichgerät mit auf 0,25 mm eingestellter Schichtdicke) soweit Sorbentien verwendet werden, die als Fertigplatte oder -folie nicht im Handel erhältlich sind (Aluminiumoxide Woelm und imprägnierte Kieselgele) und auf Kieselgelfertigplatten (Merck) an Stelle von Kieselgel GF_{254}. Diese Werte sind jeweils unter a bzw. f angegeben.

Versuche, die mit Aluminiumoxiden der Fa. Woelm erhaltenen Ergebnisse auf die von Fa. Merck hergestellten neutralen und basischen Aluminiumoxidplatten und -folien des Typs E und T zu übertragen, schlugen fehl, die Woelmschen Aluminiumoxide zeigen wesentlich bessere Auftrennungen auch innerhalb bestimmter, in ihrem chromatographischen Verhalten relativ ähnlicher Substanzgruppen, während die Merckschen Platten und Folien nur Auftrennungen in Gruppen ergeben. Mit

---

x) Die unter b angeführten hR_f-Werte weichen zum Teil stärker von den mit exakt eingestellten Geräten hergestellten Schichten (a) ab, ein Beweis dafür, daß auch die Schichtdicke einen Einfluß auf die hR_f-Werte besitzt.

Aluminiumoxidfolien N (neutral) Typ T gelang mir jedoch die auf S. 29 beschriebene Umkehrung der hR_f-Werte der Substanzgruppen der HCl-Fraktion mit dem sehr stark polaren Fließmittel Aceton, Wasser (15 : 85). Diese Umkehrung war nicht mit den Woelmschen Aluminiumoxiden unter Verwendung der Fließmittel zu erreichen, die bei Kieselgelschichten diesen Effekt hervorrufen.

Beim Vergleich der mit selbstgestrichenen und mit Fertigplatten erhaltenen hR_f-Werte fiel auf, daß die Werte auf selbstgestrichenen Platten weiter auseinanderliegen als bei Fertigplatten. Dieser Effekt wurde auch von Schweda [40] beim Arbeiten mit Fertigfolien (Eastman) festgestellt, während Machata [41] beim Arbeiten mit den gleichen Folien keine Abweichungen gegenüber den mit selbstgestrichenen Platten erhaltenen Ergebnissen bemerkt hat. Dieser Effekt wirkt sich auf die sehr difficilen Trennungen der zahlreichen Substanzen, die in der HCl-Fraktion anfallen, negativ aus, die Werte dieser Substanzen wurden deshalb auch mit 0,25 mm dick beschichteten Platten ermittelt, aus Platzgründen sind hier die mit den dünneren Schichten ermittelten Werte jedoch nicht angegeben.

Zusammenfassend läßt sich über den Vergleich der mit selbstgestrichenen (Schichtdicke 0,25 mm) und mit Fertigplatten ermittelten Ergebnisse, die vor allem mit den Substanzen der HCl-Fraktion erhalten wurden, sagen:

1. die Fleckenform ist runder und kleiner bei Verwendung von Fertigplatten. Dadurch ist eine Auftrennung bei kleineren hR_f-Wert-Unterschieden möglich.

2. der Bereich, in dem sich die Substanzen trennen, wird bei Fertigplatten von oben und unten mehr oder weniger stark komprimiert. Der Abfall der hohen hR_f-Werte ist bei Verwendung des

---

40) P. Schweda, Analytic. Chem. 39, 1019 (1967)

41) G. Machata, Deut. Z. Gesamte Gerichtl. Med. 59, 181 (1967)

relativ unpolaren Fließmittels 1 sehr viel stärker (bis zu 16 mm) als bei Fließmittel 2 oder 3 (bis zu 9 mm). Bei dem letztgenannten Fließmittel sind die Abweichungen am geringsten (siehe jedoch Punkt 3). Die Abweichungen der unteren hR_f-Werte wiederum treten nur bei den Fließmitteln 2 und 3, nicht jedoch bei 1 auf. Der unter 1 erwähnte Vorteil der Fertigplatten wird durch den unter 2 beschriebenen Nachteil mehr als aufgehoben. Um Fertigplatten möglichst vorteilhaft verwenden zu können, bedarf es der Entwicklung spezieller Fließmittel.

3. die hR_f-Werte von Säuren fallen beim Arbeiten mit dem sauren Fließmittel 3 unverhältnismäßig stark ab bei Verwendung von Fertigplatten. Bei Fließmittel 2 kann sich dieser Effekt mit dem unter Punkt 2 geschilderten Ansteigen der niedrigen hR_f-Werte kompensieren.

4. Barbiturate und Substanzen, die auf selbstgestrichenen Platten mit Fließmittel 3 ähnliche hR_f-Werte zeigen, fallen bei Verwendung des gleichen Fließmittels und Fertigplatten etwa gleich stark ab. Bei Verwendung der basischen Fließmittel 1 und 2 mit Fertigplatten fallen die hR_f-Werte der Barbiturate jedoch stark ab gegenüber der Substanzen, die mit den gleichen Fließmitteln und selbstgestrichenen Platten ähnliche Werte zeigen.

5. In Aceton- und Methanolhaltigen alkalischen und neutralen Fließmitteln entwickelte Fertigplatten zeigen nach dem Erhitzen im Trockenschrank eine hellbraune Farbe, beim Betrachten im UV-Licht wirkt der Plattengrund fluoreszenzlöschend und mit Sprühreagenzien treten Nachteile bei der Anfärbung auf (s. S. 84). Generell läßt sich sagen, daß viele mit Reagenzien auf Fertigplatten erzielte Farbreaktionen nicht so gut ausfallen, wie auf selbstgestrichenen Platten. Die Farben sind oft weniger intensiv und verblassen schneller.

Die mit selbstgestrichenen Platten erhaltenen Ergebnisse lassen sich also nur bedingt auf Fertigplatten übertragen; für einen Trennungsgang, der z. B. nur auf Verwendung von Fertigplatten eingestellt werden soll, müssen auch sämtliche Vorversuche mit diesen ausgeführt werden. Auch die mit Plastikfolien (Merck) erhaltenen Ergebnisse weichen zum Teil von den mit Fertigplatten und stärker von den mit selbstgestrichenen Platten ermittelten Ergebnissen (s. S. 147) ab, was eventuell mit einer unterschiedlichen Aktivierung der Platten erklärbar ist und beim Nacharbeiten fremder Ergebnisse beachtet werden muß.

2. 4. Auswahl der Reagenzien zur Detektion

Die Reaktionen von etwa 60 in der Literatur angegebenen Reagenzien wurden hinsichtlich ihrer Anwendbarkeit auf die in diesem Trennungsgang bearbeiteten Substanzen geprüft. Die Auswahl erfolgte nach folgenden Gesichtspunkten:

1. einige Reagenzien sollen mit möglichst vielen Substanzen reagieren, um diese vollständig zu erfassen.
2. einige Reagenzien sollen, vor allem bei schwierigen chromatographischen Auftrennungen, spezifische Reaktionen geben.
3. die Anwendung der Reagenzien soll möglichst einfach und ungefährlich sein.

Punkt 1 und 2 konnten weitgehend beachtet werden, Punkt 3 dagegen nur bedingt, einige Reagenzien (z. B. Marquis-Reagenz) sind in ihrer Handhabung nicht sehr angenehm (gesundheitsschädigend u. ä.), geben jedoch teilweise sehr spezifische Reaktionen und wurden deshalb hier angegeben.

Einige spezifische Reaktionen hervorrufende Reagenzien wurden nicht in den Trennungsgang aufgenommen, da die entsprechenden Substanzen durch die verwendeten Fließmittel gut zu trennen sind. Erwähnt sei je-

doch das für den Nachweis von Methylendioxy-Gruppen gut brauchbare, spezische Chromotropsäure-Reagenz von Gunner und Hand [42].

2.5. Auswertung und Darstellung der chromatographischen Ergebnisse

Wegen der kürzeren Schreibweise gegenüber den R_f-Werten wurden die hR_f-Werte der Substanzen wiedergegeben (R_f-Wert mal 100). Zur Identifizierung von Substanzen innerhalb eines Trennungsganges gibt es verschiedene Möglichkeiten. Häufig werden die hR_f- oder R_f-Werte nur in tabellarischer Form angegeben. Um einen systematischen Trennungsgang jedoch übersichtlicher zu gestalten, wurden von Waldi [22] die Darstellung der Ergebnisse in Form chromatographischer Profile eingeführt, die Waksmundzki und Rozylo [43] "chromatographische Spektren" nennen. Macek und Vecerkova [25] verwenden dagegen bei ihrem Trennungsgang Leitsubstanzen und nehmen die Gruppeneinteilung sowohl aufgrund chromatographischer Eigenschaften als auch unterschiedlicher Reaktionen mit zahlreichen Sprühreagenzien vor. Da die charakteristische Form der Profile gerade bei stärkeren Schwankungen der hR_f-Werte erhalten bleibt, übernahm ich diese Methode, um die chromatographischen Ergebnisse dieser Arbeit darzustellen. Gleichzeitig wurden relativ viele Reagenzien zur Detektion herangezogen, um zum Teil spezifische Farbreaktionen zu erhalten.

Es ist auch möglich, bestimmte, in diesem Analysengang beschriebene Verbindungen als Leitsubstanzen zu benutzen und zwar je nach der Zusammensetzung der zu untersuchenden Fraktion bzw. Gruppe.

---

42) S. W. Gunner und T. B. Hand, J. Chromatogr. 37, 357 (1968)

43) A. Waksmundzki und J. Rozylo, Chem. analit. (Warszawa) 13, 463 (1968)

B Überlegungen und Versuche über Extraktion und Identifizierung der ätherischen Öle, die in flüssigen Hustenmitteln enthalten sind

1. Problemstellung

Die Schwierigkeit bei der Isolierung ätherischer Öle aus Hustenmitteln liegt darin, daß bei den gängigen Methoden der Extraktion mit organischen Lösungsmitteln auch Arzneistoffe erfaßt werden können. Da diese bei der Identifizierung der ätherischen Öle stören, muß eine Aufbereitungsmethode gefunden werden, die eine weitgehende Trennung beider Stoffgruppen ermöglicht. Bisher wurden Trennprobleme dieser Art in der Literatur noch nicht beschrieben.

2. Versuche zur Extraktion

2.1. Perforation einer sauren wässrigen Lösung

Da etwa 80 % der verwendeten Arzneistoffe basischen Charakter besitzen, kann eine gewisse Trennung durch Extraktion einer stark-sauren wässrigen Lösung mit organischen Lösungsmitteln erreicht werden. Um die Extraktion möglichst quantitativ durchzuführen, wurde ein Perforator verwendet.

Jeweils zwei saure, neutrale und basische Arzneistoffe, die sich in Acidität bzw. Basizität und Polarität unterscheiden, wurden in Konzentrationen handelsüblicher Hustensäfte und -tropfen aus salzsaurer wässriger Lösung mit Pentan und im zweiten Versuch mit Tetrachlorkohlenstoff extrahiert.

> Je 30 ml einer wässrigen (oder bei schlechter Löslichkeit einer wässrig-alkoholischen) Lösung der Arzneistoffe wurden in einem Scheibenperforator (Quickfit, für spezifisch leichte bzw. schwere Lösungsmittel) unter Zusatz von 1,5 ml 0,5 n HCl mit 150 ml Pentan bzw. Tetrachlorkohlenstoff extrahiert. Die Perforation wurde jeweils zu verschiedenen Zeiten unterbrochen, um festzustellen, wieviel des Arznei-

stoffes übergegangen war. Das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer abgezogen, der Rückstand in Methanol gelöst [x] und der Gehalt unter Verwendung entsprechender Eichgeraden (s. Band 2 S. 123) photometrisch ermittelt.

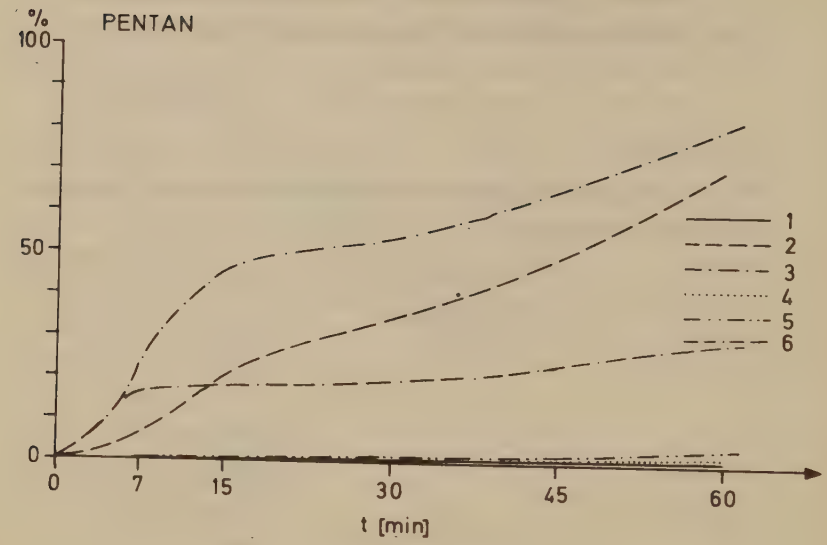
Konzentration der wässrigen bzw. wässrig-alkoholischen Lösungen der untersuchten Arzneistoffe:

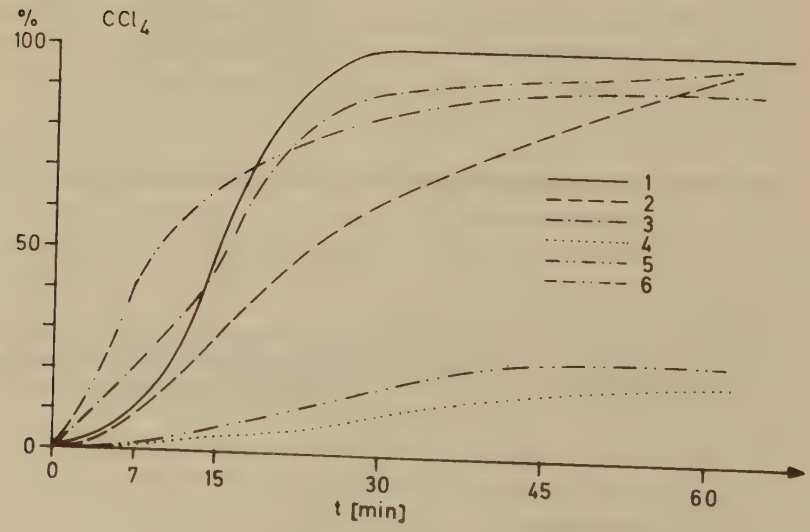
		Konzentration mg in 30 ml	Lösung
1	Ethaverin	150	in 5 ml 70 % v/v Äthanol, beim Zusetzen von 25 ml Wasser entsteht eine Suspension
2	Äthoform	30	in 30 ml Wasser mit HCl angesäuert
3	Salicylsäure	300	wie Ethaverin
4	Barbital	30	in 30 ml Wasser
5	Guajakolglycerinäther	300	in 30 ml Wasser
6	Phenylbuttersäure-guajakolester	52,5	wie Ethaverin

Abbildungen: extrahierte Menge des Arzneistoffes als Funktion der Perforationszeit

---

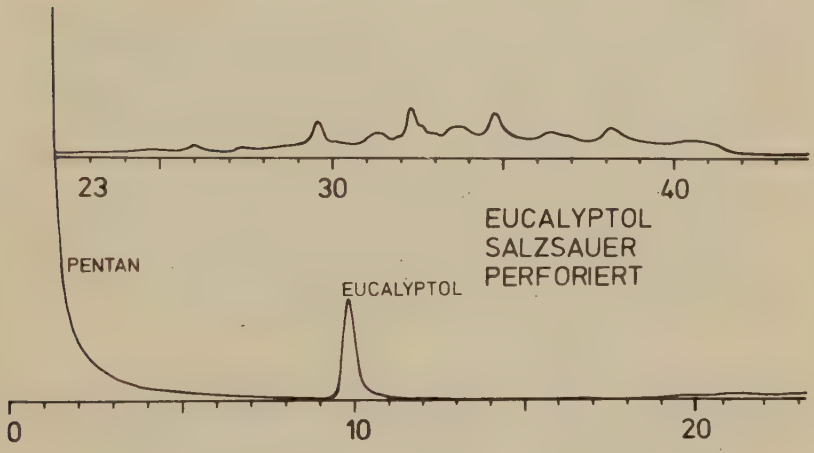
x) Zur Messung der Konzentration von Barbital wurde, um eine bathochrome Verschiebung des Kurvenmaximums zu erreichen, die methanolische Lösung der Substanz 1 : 1 mit 0,1 n wässriger Natronlauge verdünnt.


%
PENTAN
100
50
0
0
7
15
30
45
60
t [min]
1
2
3
4
5
6


%
CCl4
100
50
0
0
7
15
30
45
60
t [min]
1
2
3
4
5
6

Die Ergebnisse zeigen, daß bei Verwendung von Pentan zwar weniger Substanz extrahiert wird, aber selbst die relativ schwachen Basen Ethaverin und Äthoform noch übergehen.

Um die Gefahr der Zersetzung der ätherischen Öle in salzsaurer Lösung zu untersuchen, wurde 6 mg reines Eucalyptol den gleichen Bedingungen wie Ethaverin unterworfen. Die Perforation wurde nach einer Stunde unterbrochen, das Pentan abgedampft und der Rückstand gaschromatographisch unter Verwendung der SE-30-Säule untersucht:



Neben dem Eucalyptol-Peak treten bei Retentionszeiten von 20 bis 40 Minuten zahlreiche kleinere Peaks auf, die auf eine Zersetzung der Substanz schließen lassen. Reaktionen von Terpenen in saurer Lösung sind in der Literatur beschrieben. So war die Einwirkung von Säuren zum Abbau, zu Umlagerungen und Isomerisierungen von Terpenen ein von Wallach [43 a)] viel benutztes Mittel zur Erforschung der Terpenchemie.

---

43 a) O. Wallach, Liebigs Ann. Chem. 239, 1 (1887)

Nach Diskussion mit Herrn Dr. Farnow [x], der die Instabilität von Terpenen in saurer Lösung bestätigte, führte ich keine weiteren Versuche dieser Art durch.

2.2. Wasserdampfdestillation

Eine andere gängige Methode zur Abtrennung ätherischer Öle aus wässrigen Lösungen ist die Wasserdampfdestillation [44], bei der nur wasserdampfflüchtige Stoffe übergehen.

Versuche mit der von Stahl und Fuchs [45] konstruierten "Karlsruher Apparatur" - einer Variation der auch im DAB 7 vorgeschriebenen Neo-Clevenger-Apparatur - zeigten inder Meßkapillare keine gute Abtrennung der Lösung des ätherischen Öls in Xylol von der wässrigen Phase. Vor allem das in Anisöl enthaltene Anethol verursachte eine so starke Durchmischung dieser beiden Phasen, daß das gesamte Wasser im Rücklaufsystem getrübt war. Bei den ohnehin relativ kleinen Konzentrationen von ätherischen Ölen in Hustenmitteln erschwert ein so hoher Verlust deren Identifizierung erheblich.

Ein Ausweg wäre, das Destillat getrennt aufzufangen und mit einem geeigneten Lösungsmittel zu extrahieren. Auch bei dieser Methode kann jedoch durch den Wasserdampf Zersetzung empfindlicher Öle eintreten, außerdem müßten in einem sehr aufwendigen Verfahren alle Arzneistoffe auf ihre Wasserdampfflüchtigkeit untersucht werden, um eindeutige Ergebnisse bei der Identifizierung der Öle zu erhalten.

---

44) z. B. F. Schlemmer et al. Pharmaz. Ztg. verein. Apotheker-Ztg. 46, 1812 (1968)

45) E. Stahl und J. Fuchs, Dtsch. Apotheker-Ztg. 108, 1227 (1968)

x) Ich danke Herrn Dr. Farnow (Fa. Dragoco, Holzminden) für die wertvollen Diskussionen und Ratschläge zur Isolierung und IR-spektroskopischen und gaschromatographischen Identifizierung der hier bearbeiteten ätherischen Öle.

2. 3. Ionenaustausch

Weitere Überlegungen führten zu Versuchen mit Ionenaustauschern, um so eine Abtrennung basischer und saurer Arzneistoffe aus der wässrigen Lösung zu erreichen. Aus den Rezepturen handelsüblicher Hustenmittel wurden die höchsten molaren Konzentrationen saurer und basischer Arzneistoffe ermittelt. Die eingesetzte Menge Ionenaustauscher entspricht etwa dem 10fachen Überschuß des Äquivalents, das zur Bindung des Arzneistoffes ausreichen würde.

Die folgenden Versuche sollen zeigen, wie weit basische und saure Substanzen und Neutralstoffe gebunden werden. Es wurde mit den schon vorher untersuchten Substanzen (s. S. 37) gearbeitet und außerdem mit Anethol, als Beispiel für den Hauptinhaltsstoff eines ätherischen Öls.

> 20 g Mischbettaustauscher (Merck) wurden mit ausgekochtem, demineralisiertem Wasser zwei Stunden stehen gelassen, und dann in eine Säule überführt. Das Wasser wurde bis zur oberen Schicht des Austauschers abgelassen und darauf 30 ml einer Lösung des Arzneistoffes in 50 % v/v Äthanol zugegeben. Die Tropfgeschwindigkeit wurde zwischen 50 und 60 Tropfen pro Minute gehalten [x]. Sobald die oberste Schicht des Austauschers trocken wurde, spülte man zweimal mit je 10 ml 50 % v/v Äthanol nach. Der Gehalt des Eluats wurde photometrisch mit Hilfe entsprechender Eichgeraden (s. Band 2, S. 123) ermittelt. [xx]

---

x) Proportional zur Tropfgeschwindigkeit wächst die Konzentration der Neutralstoffe im Eluat. Um basische und saure Arzneistoffe vollständig zu binden, darf sie nicht zu stark erhöht werden.

xx) Zur Messung der Konzentration von Barbital wurde das Eluat 1 : 1 mit 0,1 n wässriger Natronlauge verdünnt. (S. Fußnote S.

Substanz	eingesetzte Menge in mg/30 ml	Prozent Substanz im Eluat
Ethaverin	30	praktisch null
Äthoform	30	0,3 - 0,6
Salicylsäure	300	praktisch null
Barbital	30	praktisch null
Guajakolglycerinäther	300	88 - 96 +
Phenylbuttersäureguajakolester	50	55 - 64 +
Anethol	30	74 - 77 +

+ je nach Tropfgeschwindigkeit

Die Ergebnisse zeigen, daß sogar schwache Säuren und Basen praktisch ganz gebunden werden, während die Neutralstoffe zu unterschiedlichen Anteilen adsorptiv festgehalten werden können.

2.4. Ionenaustausch kombiniert mit Perforation

Das nach dem Ionenaustausch erhaltene Eluat muß zur weiteren Abtrennung wasserlöslicher Substanzen - Zucker, Stärkesirup u. a. - perforiert werden. Dazu empfiehlt sich als organisches Lösungsmittel Pentan:

1. wegen des niedrigeren Siedepunktes wird die Lösung der temperaturempfindlichen ätherischen Öle bei der Perforation weniger erwärmt, und der Verlust der leichtflüchtigen Komponenten der Öle beim Abziehen des Lösungsmittels ist geringer.
2. wegen der geringeren Extraktion der in der wässrigen Lösung noch enthaltenen Neutralstoffe. Vor allem Guajakolglycerinäther wird von Pentan kaum extrahiert.

Es resultierte so folgende Versuchsanordnung:

> Das vom Ionenaustauscher erhaltene Eluat wurde in einer Quickfit-Apparatur mit einem Scheibenperforator mit 150 ml Pentan zwei Stunden extrahiert bei schwachem Sieden des Pentans. Der Gehalt wurde wie S. 37 beschrieben bestimmt.

Die lange Perforationszeit ist nötig, um einen möglichst hohen Anteil des ätherischen Öls zu extrahieren. Diese Versuche wurden sowohl mit einem Gemisch von je 10 g stark basischem Anionenaustauscher und stark saurem Kationenaustauscher (beide von Fa. Merck) als auch mit 20 g Mischbettaustauscher (Merck) durchgeführt.

Substanz	eingesetzte Menge in mg/30 ml	Prozent Substanz gefunden Mischbett austauscher	Mischung von Austauschern
Guajakolglycerinäther	300	10 - 20	1 - 2
Phenylbuttersäureguajakolester	50	3 - 10	24 - 33
Anethol	30	40 - 50	50 - 55

Diese Versuche geben zum Teil recht unterschiedliche Ergebnisse, je nachdem ob der Mischbettaustauscher oder das Austauscher-Gemisch verwendet wurde. Mischbettaustauscher sind fein verteilte Gemische von Anionen- und Kationenaustauschern [45 a)]. Die unterschiedlichen Ergebnisse meiner Versuche können daher entweder durch die feinere Verteilung der Komponenten des Mischbettaustauschers hervorgerufen werden oder dadurch, daß zur Herstellung des Mischbettaustauschers andere Ionenaustauscher-Typen verwendet werden, als die von mir zur Herstellung des Gemisches benutzten.

Beim Anethol, das möglichst quantitativ extrahiert werden sollte, beträgt der Verlust in beiden Fällen etwa die Hälfte der eingesetzten Substanz.

---

45 a) K. Dorfner, Ionenaustauscher, Walter de Gruyter u. Co, Berlin, 2. Aufl. 1964, S. 169

Mit einem etwas polareren Extraktionsmittel - z. B. Äther - würden sicher größere Mengen an Anethol, aber auch anderer Neutralstoffe bei der Perforation übergehen. Wegen der Nachteile, die die Verwendung von Diäthyläther mit sich bringt - vor allem der Zersetzung des empfindlichen Untersuchungsmaterials durch Peroxyde -, wurden jedoch Perforationen mit diesem Lösungsmittel nicht durchgeführt. Die auf S. 163 ff. und S. 178 ff. abgebildeten Gaschromatogramme und IR-Spektren der nicht aufbereiteten und aufbereiteten Öle zeigen, daß nach der Aufbereitung praktisch alle Komponenten der ätherischen Öle wieder erhalten werden und nur deren quantitative Zusammensetzung sich etwas verschiebt, vor allem durch den größeren Verlust der leichter flüchtigen Anteile.

Zum Abschluß wurden noch Versuche mit Mischungen eines sauren bzw. basischen Arzneistoffes mit einem Neutralstoff durchgeführt, um einen etwaigen lösungsvermittelnden Einfluß beim Ionenaustausch zu kontrollieren. Die nach dem Ionenaustausch erhaltenen Eluate wurden wieder zwei Stunden perforiert. (Quantitative Bestimmung s. S. 37)

Substanzmischung	eingesetzte Menge in mg/30 ml	Prozent Substanz gefunden	
		Mischbett-austauscher	Mischung von Austauschern
Äthoform und	30	x	0
Guajakolglycerinäther	300	x	0,5
Salicylsäure und	100	0	0
Guajakolglycerinäther	300	2 - 3	0,5

Die Versuche zeigen, daß auch aus Lösungen von Gemischen aus Neutralstoffen und Basen oder Säuren diese in gleicher Weise durch Ionenaustauscher gebunden werden wie beim Arbeiten mit jeweils reinen Lösungen.

[x] Im Gegensatz zu den Versuchen mit Gemischen von stark basischen und sauren Ionenaustauschern findet man bei der Verwendung des Misch-

bettaustauschers eine geringe Menge Äthoform wieder: das UV-Spektrum zeigt eine breite Bande mit zwei Maxima bei 276 und 292 nm, die durch Gujakolglycerinäther bzw. Äthoform verursacht werden. Eine quantitative Aussage ist wegen der starken Überlagerung der Maxima nicht möglich. Auch die zweiten Maxima beider Substanzen bei 225 nm überlagern sich. Selbst wenn man den Anteil der Absorption von Guajakolglycerinäther am langwelligen Maximum außer Acht läßt, ergibt sich nur eine Konzentration von 1 bis 2 % Äthoform. Der tatsächliche Wert liegt jedoch niedriger. Der Versuch mit Äthoform ohne Zusatz anderer Substanzen und Mischbettaustauscher (s. S. 42) ergab eine Konzentration von 0,3 - 0,6 % der Substanz. Aus diesen Versuchen läßt sich folgern, daß der Mischbettaustauscher Äthoform zu einem geringen Anteil nicht bindet im Gegensatz zur vollständigen Bindung bei Verwendung der Anionen- und Kationenaustauscher-Mischung.

2.5. Ionenaustausch und Perforation in Gegenwart von Lösungsvermittlern

Eine Anwendung der hier entwickelten Aufbereitungsmethode auf einen Hustensaft (Cito-Guakalin STADA), der eine oberflächenaktive Substanz - Polyoxyäthylensorbitanlaureat - enthält, zeigte keine Störung der Perforation durch Emulsionsbildung.

3. Identifizierung der aufbereiteten Öle

Die Identifizierung solch komplexer Stoffgemische, wie die der ätherischen Öle, erfordert die Anwendung entsprechend spezifischer Methoden von der Art der Gaschromatographie und der IR-Spektroskopie. Vor allem auf dem Gebiete der Gaschromatographie gibt es zahlreiche Veröffentlichungen über die Analyse von Terpengemischen und spezieller ätherischer Öle, in denen die verschiedensten Träger und vor allem

Trennflüssigkeiten angegeben sind. In neuerer Zeit haben sich gerade auf diesem Gebiet wegen ihrer hohen Trennleistung die Kapillarsäulen durchgesetzt.

Monoterpen-Gemische, wie sie auch in den hier zu bearbeitenden Ölen enthalten sind, untersuchten Geyer et al. [46] unter Verwendung von u. a. Dioctylphthalat, Trikresylphosphat, Polyestern, Polyäthern und Siliconölen als Trennflüssigkeit sowie Klouwen und Ter Heide [47] unter Verwendung von Apiezon L, Siliconöl, $\beta\beta'$-Oxydipropionitril und anderen Trennflüssigkeiten. Die zuletzt genannten Autoren betonen die Notwendigkeit, als Träger säuregewaschenes Material zu verwenden, da sonst die Gefahr besteht, daß die in den zu trennenden Verbindungen enthaltenen Doppelbindungen isomerisieren. Stevens und Warren [48] verwendeten für ähnliche Gemische Carbowax, Bahjat [49] Apiezon L und Haslam und Jeffs [50] Tritolylphosphat und Di-n-decylphthalat als Trennflüssigkeit. Stahl und Trennhäuser [51] trennten Terpen- und Hydroxyphenylpropankörper mit Polypropylenglykol, Siliconöl und anderen Trennflüssigkeiten. Thies und Schuster [52] arbeiteten für die Trennung von Vielstoffgemischen mit Diäthylenglycolsuccinat und Siliconöl und erarbeiteten einen besonderen Schlüssel zur Auswertung von Vielstoffchromatogrammen. Schratz und Wahlig [53] trennten verschiedene Öle, unter anderem Eucalyptus-Öl, auf einer mit Polypropylenglykol beschichteten

---

46) S. Geyer, W. Ziegler, S. Helm und R. Mayer, Z. Chem. 5, 309 (1965)

47) M. H. Klouwen und R. Ter Heide, J. Chromatogr. 7, 297 (1962)

48) S. G. Stevens und B. Warren, J. Pharmacy, Pharmacol. 16, Suppl. 32T - 34T (1964)

49) K. S. Bahjat, J. Pharmac. Sci. 52, 1006 (1963)

50) J. Haslam und A. R. Jeffs, Analyst 87, 658 (1962)

51) E. Stahl und L. Trennhäuser, Arch. Pharmaz. 293, 826 (1960)

52) H. Thies und G. Schuster, Dtsch. Apotheker-Ztg. 108, 1609 (1968)

53) E. Schratz und T. Wahlig, Planta med. 13, 3 (1965)

Kapillarsäule, Baerheim Svendsen und Karlsen [54] trennten ätherische Öle auf den von den Autoren entwickelten "low-load"-Säulen (geringer Säulendurchmesser, niedriger Prozentsatz flüssiger Phase) mit Polyäthylenglykol und Fractonitril II.

Auch die Trennung stereoisomerer Menthole wurde bearbeitet [55) 56) 57) 58)]. Sie gelingt jedoch befriedigend nur bei Verwendung von Kapillarsäulen [56) 58)].

Mit der Trennung und Identifizierung verschiedener Öle von Pfefferminzarten beschäftigten sich Hefendahl [59)], Barheim Svendsen und Karlsen [60)], Küchler, Büchi und Iconomu [61)], v. Schantz und Juvonen [62)]. Die zuletzt genannte Arbeit beschäftigt sich auch mit der Trennung von Anisölen. Als Trennflüssigkeit bewährte sich bei den drei zuletzt genannten Arbeiten vor allem Polyäthylenglykol.

Mit dem Nachweis von Menthofuran in verschiedenen Pfefferminzarten beschäftigten sich Nigram und Levi [63)].

Als Träger wurde von allen Autoren am häufigsten säuregewaschenes Chromosorb verwendet. Die Variationen der Trennflüssigkeit wurden vor allem mit dem Ziel vorgenommen, für die Trennung ätherischer Öle geeignete selektive Phasen zu finden. Kohlenwasserstoffe, wie z. B. Apiezon L, trennen Substanzen überwiegend nur in der Reihenfolge der Siedepunkte, während polarere Phasen selektiv in bezug auf einige Substanzen sein können, das heißt sie halten diese Substanzen bevorzugt zurück.

---

54) A. Baerheim Svendsen und J. Karlsen, Planta med. 15, 1 (1967)

55) W. Neudert und J. Huber, Arch. Pharmaz. 295, 67 (1962)

56) K. Kogami, K. Aoki, T. Aisaka, T. Hasegawa und J. Kumanotani, J. Japan Oil Chemists' Soc. 14, 129 (1965)

57) T. A. Rudol'fi und M. M. Shchedrina, Izvest. Akad. Nauk. SSR, Ser. chim. 11, 2660 (1968)

58) 31) S. 76

59) F. W. Hefendahl, Planta med. 10, 179 (1962)

60) A. Barheim Svendsen und J. Karlsen, ibd. 14, 378 (1966)

61) E. Küchler, J. Büchi und N. Iconomu, Pharmac. Acta Helvetiae 40, 168 (1965)

62) M. v. Schantz und S. Juvonen, Arch. Pharmaz. 302, 775 (1969)

63) J. C. Nigram und L. L. Levi, J. Pharmac. Sci., 53, 1008 (1964)

Ich entschied mich so für die Verwendung von Polypropylenglykol als Trennflüssigkeit und säuregewaschenem Chromosorb als fester stationärer Phase. Die maximale Arbeitstemperatur dieser Säule liegt bei 150 °C. Beim temperaturprogrammierten Arbeiten mit 150 ° als Endtemperatur ergeben sich jedoch zu hohe Retentionszeiten (über eine Stunde) für mehrere Substanzen, die bevorzugt von der flüssigen Phase festgehalten werden. Deshalb entschied ich mich für eine isotherme Arbeitsweise bei der für diese Phase maximal-möglichen Temperatur. Eine isotherme Arbeitsweise ermöglicht auch eine einfache quantitative Aussage (s. S. 172).

Außerdem wurden alle Öle noch zum Vergleich mit dem unpolaren Siliconöl SE 30 als flüssiger stationärer Phase chromatographiert.

Seite

III. Systematischer Trennungsgang

Inhaltsverzeichnis

A		Extraktion und dünnschichtchromatographische Identifizierung der Inhaltsstoffe	51
	1.	Extraktion der Probe und Verteilung der Inhaltsstoffe auf die einzelnen Fraktionen des variierten Stas-Otto-Ganges	51
	1.1.	Vorschrift zur Extraktion	51
	1.2.	Verteilung der Inhaltsstoffe auf die einzelnen Fraktionen	53
	2.	Chromatographische Bedingungen	65
	2.1.	Kammersättigung, Sorbentien und Fließmittel	65
	2.2.	Auftragen der Proben-Extrakte	68
	2.3.	Entwickeln	69
	2.4.	Detektion und Auswertung	69
	3.	Besprechung der einzelnen Fraktionen	75
	3.1.	Salzsaure (HCl-) Fraktion	75
	3.1.1.	hR_f-Werte	75
	3.1.2.	Detektion	84
	3.1.3.	Profile und Besprechung der chromatographischen Eigenschaften der Substanzen	95
	3.2.	Weinsaure (WS-) Fraktion	100
	3.2.1.	hR_f-Werte	100
	3.2.2.	Detektion	106
	3.2.3.	Profile und Besprechung der chromatographischen Eigenschaften der Substanzen	113
	3.3.	Alkalische (NaOH-) und Ammoniakalische (NH_3-) Fraktion	116
	3.3.1.	hR_f-Werte	116
	3.3.2.	Detektion	122
	3.3.3.	Profile und Besprechung der chromatographischen Eigenschaften der Substanzen	129

		Seite
3.4.	Wässriger Rückstand (WR)	132
3.4.1.	hR_f-Werte	132
3.4.2.	Detektion	137
3.4.3.	Profile, Besprechung der chromatographischen Eigenschaften der Substanzen	145
4.	Spezielle Probleme	148
4.1.	Isoaminilcyclamat	148
4.2.	Glucosulfamid	155
4.3.	Extraktion von Hydrochloriden aus salzsaurer Phase	155
5.	Hinweise zur quantitativen Bestimmung von Substanzen	158
B	Extraktion und Identifizierung der ätherischen Öle	159
1.	Aufbereitung der Probe	159
2.	Identifizierung der Öle	161
2.1.	Gaschromatographische Identifizierung	161
2.1.1.	Arbeitsweise	161
2.1.2.	Chromatogramme der nicht aufbereiteten und aufbereiteten Öle (Polypropylenglykol-Säule)	163
2.1.3.	Tabelle mit Retentionszeiten und -volumina	167
2.1.4.	Auswertung und Identifizierung	172
2.1.5.	Vergleichschromatogramme der aufbereiteten Öle (SE 30-Säule)	174
2.2.	IR-spektroskopische Identifizierung	178

III Systematischer Trennungsgang

A. Extraktion und dünnschichtchromatographische Identifizierung der Inhaltsstoffe

1. Extraktion der Probe und Verteilung der Inhaltsstoffe auf die einzelnen Fraktionen des variierten Stas-Otto-Ganges

1.1. Vorschrift zur Extraktion

Reagentien: 0,5 n Salzsäure
20 %ige Lösung von $Na_2CO_3 \cdot 10\ H_2O$ in Wasser
15 %ige Lösung von Weinsäure in Wasser
10 %ige Lösung von NaOH in Wasser
25 %ige Salzsäure
5 %ige NH_3-Lösung
Methylenchlorid p. A.
Methylenchlorid p. A. -Isopropanol p. A. 3:1 (Volumenteile)
Universalindikatorpapier Merck
Natriumsulfat getrocknet

HCl-Fraktion: 25 ml Hustensaft oder 3 - 5 ml Hustentropfen - mit Wasser auf 25 ml ergänzt - werden in einen 50 ml Scheidetrichter mit Teflon-Hahn gebracht und mit 1,0 ml 0,5 n HCl auf einen pH von 1 eingestellt.

WS-Fraktion: Nach der Extraktion der salzsauren Lösung wird die wässrige Phase mit 1 ml Na_2CO_3-Lösung alkalisiert und mit etwa 0,5 ml Weinsäure-Lösung auf einen pH von 4 gebracht.

NaOH-Fraktion: Nach der Extraktion der weinsauren Lösung wird die wässrige Phase mit etwa 1 ml NaOH-Lösung stark alkalisch gemacht.

NH_3-Fraktion: Nach der Extraktion der alkalischen Lösung wird die wässrige Phase mit 25 %iger HCl angesäuert und mit etwa 0,3 ml NH_3 ein pH von 8 eingestellt.

Wässriger Rückstand: Nach der Extraktion der wässrigen Phase bei pH 8 wird der wässrige Rückstand am Rotationsverdampfer eingeengt und mit 0,5 n HCl, falls nötig, neutralisiert (pH 6 - 7).

Die Extraktion der wässrigen Phase bei den vorgeschriebenen pH-Werten erfolgt in jeder Fraktion durch Ausschütteln mit:

4 mal je 15 ml CH_2Cl_2

und

4 mal je 15 ml CH_2Cl_2-Isopropanol (3:1)

Nach jeder Zugabe des Extraktionsmittels wird der Scheidetrichter 90 Sekunden kräftig geschüttelt und die organische Phase nach Trennung der Schichten abgelassen.

Starke Emulsionen, die vor allem bei der Extraktion der salzsauren Lösung entstehen, können getrennt werden durch Zugabe von 1 - 2 ml tert. Butanol und kräftigem Schütteln der Lösung.

Erfolgt auch dann keine gute Trennung, so muß zentrifugiert werden. Emulsionen müssen sehr sorgfältig getrennt werden, da sonst Substanzen in andere Fraktionen verschleppt werden.

Die organischen Phasen der einzelnen Fraktionen werden vereint und über getrocknetem Na_2SO_4 filtriert unter zweimaligem Nachspülen mit je 10 ml CH_2Cl_2. Man erhält so in jeder Fraktion etwa 140 ml organische Phase, die dann am Rotationsverdampfer eingeengt wird.

Wird ein Wasserbad beim Verdampfen des Lösungsmittels benutzt, so muß beachtet werden, daß einige Substanzen wasserdampfflüchtig sind und Zersetzungsgefahr bei empfindlichen Substanzen besteht.

Die Identifizierung der in den 5 Fraktionen anfallenden Substanzen kann durch dünnschichtchromatographische Untersuchungen erfolgen, wie auch durch Aufnahme von UV-, IR- und NMR-Spektren und deren Vergleich mit den Spektren der Reinsubstanzen (Band 2).

1. 2. Verteilung der Inhaltsstoffe auf die einzelnen Fraktionen

Die Verteilung der Arzneistoffe auf die einzelnen Fraktionen des Trennungsganges wurde durch Auswägen, Titration und quantitative spektroskopische Bestimmungen ermittelt (s. S. 18 ff.).

Die Angabe "Spur" wurde gewählt, wenn die durch die verschiedenen Methoden ermittelte Menge einer Substanz so gering war, daß diese Größe auch durch den Fehler der jeweiligen Methode vorgetäuscht werden kann.

x) bedeutet, daß die Substanz zu stärkerer Emulsionsbildung beim Extrahieren der salzsauren Lösung neigt.

xx) in der HCl-Fraktion läßt sich eine Spur durch Zersetzung der Substanz entstandenes Sulfanilamid ausschütteln (s. S. 155).

Substanz e/mg = mg Säure oder Base		HCl-Fraktion mg / %		WS-Fraktion mg / %		NaOH-Fraktion mg / %		NH_3-Fraktion mg / %		Summe in %
Äthoform										
60,6	-	56,2	92,6	-		-		-		92,6
Äthylmorphin-HCl										
57,0	51,1	2,6	5,1	6,6	11,9	37,81	74,0	3,0	5,9	96,9
Alimemazin-Tartrat										
63,6	51,0	53,7	105,2	-		-		-		105,2
Aminophenazon										
116,7	-	32,2	27,7	76,5	65,6	2,1	1,3	1,6	1,0	95,6
Anethol										
25,0	-	13,6	54,5	9,0	36,0	-		-		90,5
Ascorbinsäure										
309,6	-	Spur		Spur		-		-		fällt im WR an
Barbital										
61,9	-	61,8	99,9	-		-		-		99,9
Benzoesäure										
50,1	-	48,8	97,6	-		-		-		97,6

Benzylmorphin-methansulfonat									
62,1	49,5	37,9	76,5	12,3	24,8	-		-	101,3
Bernsteinsäure									
18,45		5,42	29,4	4,4	23,6	-		-	53,0 der Rest fällt im WR an
Bisolvon-HCl									
58,5	53,4	56,0	104,8	Spur		-		-	104,8
Campher									
21,0		10,0	47,7	9,0	42,8	-		-	90,5
Cetylpyridinium-chlorid x)		-	-	-	-	-		-	fällt im WR an
Cholinsalicylat									
1,125 g	645 mg Säure	78	12,1	106	16,5	-		-	die restliche Säure und Cholin fallen im WR an
Citronensäure		-		-		-		-	fällt im WR an
Clofedanol x)									
54,6	-	37,1	67,9	17,9	32,7	3,7	6,8	Spur	106,4

Cocosfettalkohol										
30,0	-	30,0	100,0	-		-		-		100,0
Codein										
51,3	-	2,3	4,5	5,3	10,3	44,2	86,1	-		100,9
Coffein										
112,1	-	108,7	96,8	1,3	1,2	-		-		98,0
Cyclohexylsulf-aminsäure										
107,0	-	76,3	71,3	5,7	5,3	-		-		76,6 der Rest fällt im WR an
Dextromethor-phan-HBr										
50,5	38,8	36,8	94,8	0,6	1,5	-		-		95,3
Dihydrocodein-Bitartrat										
51,1	34,1	Spur		1,3	3,8	28,4	83,6	1,1	3,3	90,7
Dihyprylon										
181,3	-	175,3	96,6	0,9	0,5	1,1	0,6	-		97,7

Dimethylphenyl-iminothiazolidin-HCl x)										
59,8	50,0	13,4	26,8	5,7	11,3	31,0	62,1	-		100,3
Diphenhydramin-HCl										
107,3	96,9	90,8	93,7	14,9	15,4	-		-		109,1
Diprophyllin										
213,9	-	78,9	36,9	72,6	33,9	34,2	16,0	15,1	7,1	93,9
Dipropylbarbitursäure										
109,1	-	105,1	97,6	Spur		Spur		Spur		97,6
Dopropyzin										
75,1	-	4,1	5,4	9,1	12,1	65,7	88,2	2,2	3,0	108,7
Doxylaminsuccinat										
61,7	42,9 Base	-		7,0	16,2	-		32,9	76,6	92,8
	18,7 Säure	6,6	34,2	5,4	28,5	-		-		62,7 der Rest fällt im WR an

Emetin-HCl										
55,8	48,5	2,3	4,7	3,4	7,1	39,0	80,2	-		92,0
Ephedrin-Ephetonin-HCl										
50,8	-	-		-		46,0	90,6	-		90,6
Etafedrin-HCl										als Hydrochlorid berechnet
71,0	-	-		5,0	7,0	62,6	88,1	-		95,1 als Hydrochlorid berechnet
Ethaverin-HCl										
100,2	91,6	95,1	103,8	Spur		Spur		Spur		103,8
Eucalyptol										
20,0	-	2,0	10,0	10,0	50,0	3,5	17,5	3,0	15	92,5
Fructose		-		-		-		-		fällt im WR an
Glucose		-		-		-		-		fällt im WR an
Glucosulfamid		xx)		-		-		-		fällt im WR an
Glycyrrhiza-Extrakt		-		-		-		-		fällt im WR an
Guajakol										
63,9	-	58,0	90,8	-		-		-		90,8
Guajakolglycerin-äther										
301,8		296,4	98,3	1,6	0,5	1,1	0,4	1,0	0,3	99,5

Isoaminil-Cyclamat										
181,9	105,0 Base 77,0 Säure	169,9	93,3	9,4	5,2	1,3	0,7	0,6	0,4	99,6 Säure und Base zus. berechnet
Khellin										
23,6		23,2	94,0	1,9	6,0	-		-		100,0
Kreosolsulfonsäure, Ca-Salz										
823,8	750,8	19,2	2,6	8,5	1,1	5,0	0,6	10,5	1,4	5,8 auf die Säure berechnet
Menthol										
20,0	-	10,0	50,0	9,0	45,0	-		-		95,0
Methylephedrin-HCl										
65,4	-	-		-		62,2	95,2	-		95,2 berechnet als Hydrochlorid
Narcein x)										
50,8	-	26,6	51,6	20,6	40,0	-		Spur		91,6
Natriidibunas										
65,3	61,1	60,9	99,6	-		-		-		99,6

Noramidopyriniummethansulfonat-Natrium										
556,3	520,2	46,6	8,9	38,1	7,3	35,2	6,8	16,3	3,1	26,2 berechnet als Säure
Normethadon-HCl										
51,3	45,6	44,9	98,4	Spur						98,4
Noscapin-HCl										
34,3	31,5	31,0	98,3	1,8	5,7	Spur		Spur		104,0
Orciprenalin-Sulfat										
32,75	-	-		-		-		5,65	17,25	17,25 als Sulfat berechnet, der Rest fällt im WR an
Oxeladin-Citrat x)										
76,0	48,3	51,1	105,6	-		-		-		105,6
Papaverin-HCl										
35,9	31,7	30,1	95,0	2,9	9,2	-		-		104,2
Pentoxyverin										
52,0		49,9	95,9	-		-		-		95,9
Phenobarbital										
33,1		33,8	102,2	Spur	-	-		-		102,2

Phenyläthylessigsäure-diäthylaminoäthylester-Citrat x)										
86,8	50,2	38,7	77,1	8,3	16,5	Spur		Spur		93,5
Phenylbuttersäure-guajakolester										
46,8	-	46,8	100,0	-		-		-		100,0
Phenylephrin-HCl										
36,6	-	-		-		-		9,8	26,8	26,8 der Rest fällt im WR an
Phenyltoloxamin-Citrat x)										
39,8	22,7	9,9	43,6	12,9	56,9	-		-		100,5
Pipazetat-HCl										
161,8	148,2	99,3	66,9	34,0	22,9	24,1	16,2	Spur		106,0
Polyoxyäthylen-sorbitanlaureat										
100,0		100,0	100,0	-		-		-		100,0
Protokylol-HCl		-	-	-		Spur		Spur		fällt im WR an
Saccharin-Natrium										
56,6	50,5	46,3	27,7	1,4	2,8	-		-		93,6

Saccharose		-		-		-		-		fällt im WR an
Salicylsäure		siehe Cholinsalicylat und Tussukal-Salicylat								
Silomat-HCl x)										
95,8	85,5	8,6	10,0	13,0	15,2	51,0	60,0	Spur		85,2
Sorbit		-		-		-		-		fällt im WR an
Sulfacetamid										
134,0	-	41,4	30,9	70,6	52,7	15,6	12,1	5,1	3,8	99,0
Sulfadiazin		-		-		-		-		fällt im WR an
Sulfogajakol										
211,8	177,7	Spur		Spur		Spur		Spur		fällt im WR an
Suprifen-HCl										
51,0	-	-		-		-		2,8	5,4	5,4 als Hydrochlorid berechnet, der Rest fällt im WR an
Theophyllin										
245,0	-	222,8	90,9	14,5	5,9	Spur		-		96,8
Thymol										
20,0	-	10,0	50,0	4,0	20,0	-		2,5	12,5	82,5

Tussukal-Salicylat								
51,3	34,9 Base	31,0	88,9	3,6	10,3	-	-	99,2
	16,3 Säure	15,1	92,3	-		-	-	92,3
Weinsäure		-		-		-	-	fällt im WR an

Besondere Beobachtungen beim Extrahieren der Substanzen:

Cetylpyridiniumchlorid bildet auch im alkalischen Milieu starke Emulsionen, die Methylenchlorid-Phase färbt sich dabei gelb, es wird jedoch praktisch keine Substanz extrahiert.

Bei der Extraktion von Protokylol im alkalischen färbt sich die wässrige und die organische Phase braun, der Farbwechsel ist bei pH-Änderungen reversibel. In der NaOH- und NH_3-Fraktion wird eine Spur brauner Substanz extrahier.

2. Chromatographische Bedingungen

2.1. Kammersättigung, Sorbentien und Fließmittel

Es wird nach der Standardmethode [64) 65)] (eine Stunde Kammersättigung) mit N-Kammern gearbeitet. Davon abweichend wird ein 20 mal 60 cm großer Filterpapierstreifen ringförmig (statt U-förmig) in die Kammer eingelegt und mit Fließmittel befeuchtet. Die Menge des Fließmittels beträgt wie vorgeschrieben 100 ml, die Angabe der Anteile bezieht sich auf Volumenteile (diese werden einzeln abgemessen und erst in der Kammer gemischt). Die verwendeten Lösungsmittel müssen p. A. -Qualität besitzen.

Bei Verwendung von Fließmitteln mit Ammoniak-Atmosphäre wird ein 25 ml Becherglas mit 10 ml NH_3 25 % 20 Minuten vor Einsetzen der Platte seitlich in die Kammer eingebracht. Diese Zeit muß genau eingehalten werden, da bei längerem Warten vor Einsetzen der Platte leichtflüchtige Komponenten des Fließmittels verdampfen und an der Oberfläche der NH_3-Lösung kondensieren. Dieser Vorgang verhindert das weitere Verdampfen des Ammoniaks [66)] und verändert außerdem die Zusammensetzung des Fließmittels. Die Bedingungen sind auch dann nicht reproduzierbar, wenn diese Fließmittel mehrere Male verwendet werden, da der geschilderte Vorgang natürlich auch während des Entwickelns der Platte weiterläuft. Auch wasserhaltige Fließmittel sollten nur einmal benutzt werden, da das aktivierte Sorbens das Wasser teilweise entzieht und sich so die Zusammensetzung des Fließmittels im Laufe der Entwicklung ändert.

---

64) E. Stahl, Z. analyt. Chem. 234, 1 (1968)

65) ibid. J. Chromatogr. 33, 273 (1968)

66) J. L. Emmerson und R. C. Anderson, ibid. 17, 495 (1965)

Sorbentien

I Kieselgelfertigplatten F_{254} (Merck), nicht Plastikfolien

II Kieselgel GF_{254} (Merck) mit dem. Wasser angerührt

III Kieselgel GF_{254} (Merck) mit 0,1 n Natronlauge angerührt

30 g Kieselgel werden mit 60 ml Wasser oder Natronlauge angerührt, in ein Desaga-Streichgerät gegeben (Schichtdicke 0,25 mm) und auf 5 Platten 20 mal 20 cm ausgestrichen. Nach 10 Minuten Trocknen an der Luft werden die fünf Platten in ein Gestell eingebracht und in senkrechter Stellung 30 Min. bei 105 - 110 °C in einem Trockenschrank aktiviert. Die Platten werden in einem Exsikkator aufbewahrt und frühestens nach zwei Stunden verwendet.
Beim Trocknen dürfen nicht mehr als fünf Platten in das Gestell eingebracht werden, da sonst die Feuchtigkeit aus den Platten ungenügend entfernt wird und demnach die Platten nicht ausreichend aktiviert werden.

IV Aluminiumoxid neutral (Woelm) mit Zusatz von 2 % Leuchtpigment (Woelm) mit dem. Wasser angerührt.

V Aluminiumoxid basisch (Woelm) mit Zusatz von 10 % Gips und 2 % Leuchtpigment mit dem. Wasser angerührt.

35 g Aluminiumoxid (bzw. 32 g Aluminiumoxid und 3,5 g Gips) werden unter Zusatz von 0,7 g Leuchtpigment mit 40 ml Wasser in einem 250 ml Jodzahlkolben kräftig geschüttelt. Es wird wie unter III beschrieben weiter verfahren.

VI Kieselgur (Merck) unter Zusatz von 2 % Leuchtpigment mit dem. Wasser angerührt.

30 g Kieselgur werden mit 0,6 g Leuchtpigment und 60 ml Wasser in einem 250 ml Jodzahlkolben kräftig geschüttelt. Es wird wie unter III beschrieben weiter verfahren.

Fließmittel

1 iso-Propyläther - Aceton (50:50) Ammoniak-Atmosphäre, Sorbens I oder II

2 iso-Propanol, Ammoniak-Atmosphäre mit Sorbens I oder II

3 Benzol, Dioxan Eisessig (50:40:10) mit Sorbens I oder II

4 Cyclohexan, Essigsäureäthylester, Diäthylamin (65:30:5) mit Sorbens III

5 Petroläther (Merck, Siedebereich 40 - 60 °C), Diäthyläther, Äthanol abs., Diäthylamin (16:64:8:4) mit Sorbens I oder II

6 Methanol mit Sorbens III

7 Pyridin, Aceton (15:85) mit Sorbens IV

8 Chloroform, Benzol, Aceton (15:70:15), Ammoniak-Atmosphäre mit Sorbens V

9 Chloroform, Äthanol abs. (88:12), Ammoniak-Atmosphäre mit Sorbens I oder II

10 n-Butanol, Pyridin, Wasser (25:50:25) mit Sorbens I oder II

11 Essigsäuremethylester, iso-Propanol, Wasser (90:5:5) mit Sorbens VI

12 n-Butanol gesättigt mit SO_2-Wasser mit Sorbens I oder II

13 Methanol, Chloroform (90:10) mit Sorbens I oder II

Das verwendete Chloroform (Merck p. A.) enthält 1 % Äthanol zum Stabilisieren.

	Entwicklungszeiten der Fließmittel (Min.)				
	1	2	3	4	5
selbstgestr. Platte	12-16	55-65	20-25	14-18	12-18
Fertigplatte	18-22	90-100	30-35	-	18-25
	der Fließmittel				
	6	7	8	9	10
selbstgestr. Platte	20-25	30-40	32-36	15-20	45-50
Fertigplatte	-	40-55	-	20-30	60-75

	der Fließmittel		
	11	12	13
selbstgestr. Platte	20-25	-	-
Fertigplatte	-	240-300	30-35

2.2. Auftragen der Proben-Extrakte

Der in den einzelnen Fraktionen erhaltene Extrakt wird nach dem Abdampfen und nach Zusatz von wenig Methanol (Gesamtmenge 1 - 3 ml) mit einer ausgezogenen Schmelzkapillare auf mehrere Startflecke in unterschiedlichen Mengen (ein bis mehrmaliges Auftupfen der Kapillare) aufgetragen. Da die Substanzen in sehr unterschiedlichen Konzentrationen extrahiert werden, muß so die optimale Auftragemenge für jede Substanz ermittelt werden, die für Kieselgel bei 20 - 30 µg liegt, bei Verwendung von Aluminiumoxid oder Kieselgur wegen der geringeren Aktivität niedriger. Der Startfleck soll so klein wie möglich gehalten werden, um die Trennschärfe beim Entwicklen zu erhöhen. Die Extrakte müssen relativ schnell aufgearbeitet werden, da sonst Zersetzungserscheinungen auftreten können, die sich in starker Schwanzbildung - z. B. Etafedrin (11) - oder im Auftreten zusätzlicher Flecken - s. S. 120 äußern. Beides stört die chromatographische Abtrennung der Substanzen erheblich. Auch Waldi [26] und Mitarbeiter haben Schwanzbildungen als Zersetzung von Substanzen beobachtet.

Leitsubstanzen (s. S. 35) und Vergleichssubstanzen werden möglichst auf mehrere Startpunkte als 1 %ige Lösungen in Methanol aufgetragen, man tupft zweimal mit der Kapillare auf den Startfleck. Bei Verwendung alkalischer Fließmittel können Salze direkt aufgetragen werden, da beim Entwickeln die Base entsteht. Bei Verwendung anderer Fließmittel muß die Base dargestellt werden durch Ausschütteln oder mit Hilfe von Ionenaustauschern (s. Band 2, S. 90).

Außerdem können als Bezugssubstanzen Buttergelb (p-Dimethylaminoazobenzol) oder Rhodamin B mit aufgetragen werden, um die hR_f-Werte zu korrigieren. [26]

Die Laufhöhe von 10 cm wird mit Bleistift oder durch vorsichtiges Anritzen der Schicht an den Seiten der Platte markiert.

2.3 Entwickeln

Erreicht die Fließmittelfront die 10 cm-Markierungen, so wird die Platte herausgenommen und unter dem Abzug oder mit einem Föhn getrocknet. Bei Verwendung saurer oder alkalischer Fließmittel muß die Platte meist 1 - 2 Stunden bei 105 - 110 °C im Trockenschrank trocknen, bis eine Detektion durch UV (Pyridin) oder Sprühreagentien möglich ist. Entsprechende Hinweise werden bei der Besprechung der einzelnen Fraktionen gegeben. Die Laufhöhe von 10 cm muß genau eingehalten werden, da bei Mehrkomponenten-Systemen die R_f-Werte oft eine Abhängigkeit von der Laufhöhe zeigen.

2.4. Detektion und Auswertung

Die Detektion erfolgt mit den bei den jeweiligen Fraktionen angegebenen Reagenzien. Aufgrund der unterschiedlichen Reaktionen wird durch Vergleich mit den in den Tabellen angegebenen Farbreaktionen eine grobe Zuordnung vorgenommen.

Alle in den Tabellen angeführten Farbreaktionen gelten nur als Richtwerte, die durch 2 bis dreimaliges Auftragen 1 proz. Substanzlösungen mit ausgezogenen Schmelzkapillaren (entsprechen Mengen von 20 bis 25 µg) ermittelt wurden. Die Farbtiefe und -nuance ist häufig vom Plattenmaterial, den Fließmittelrückständen, der Stärke des Besprühens wie auch von der Konzentration der aufgetragenen Substanzen abhängig.

Vor allem die mit Jodplateat (Reagenz 4) auftretenden Färbungen sind von diesen Faktoren stark abhängig, Reste alkalischer Fließmittel verursachen braunstichige Farbtöne. In den Tabellen als sehr schwach angegebene Reaktionen können bei sehr kleinen Substanzkonzentrationen auch negativ ausfallen.

Die hR_f-Werte der nachgewiesenen Flecken werden nun ermittelt und eventuell mit den hR_f-Werten der Bezugssubstanzen Buttergelb oder Rhodamin B, besser jedoch mit denen der Leitsubstanzen, d. h. hR_f-Werten vergleichbarer Größe korrigiert. [x] Sollen Werte von Substanzen ermittelt werden, deren Flecke starke Schwanzbildungen zeigen, wird der Mittelpunkt der Substanzzone angegeben, an der die Konzentration am größten ist. Diese Zone befindet sich meist im obersten Teil des Fleckes. Die so erhaltenen hR_f-Werte werden nun mit den in den Tabellen angegebenen verglichen [xx], dabei muß mit einer Fehlergrenze von $\pm$ 5 mm gerechnet werden, das heißt es kommen alle Substanzen in Betracht, deren Werte bis zu 5 mm oberhalb und unterhalb des Wertes der zu untersuchenden Substanz liegen, wenn nicht bei den in den Tabellen angegebenen Werten eine noch größere Fehlerbreite genannt ist. Die hR_f-Werte, die mit den bei den einzelnen Fraktionen zuerst angeführten Fließmitteln erhalten werden, bestimmen die Gruppenzugehörigkeit einer Substanz. Die Differenzierung innerhalb dieser Gruppe geschieht durch Vergleich der in den anderen Fließmitteln erhaltenen hR_f-Werte. Gut brauchbar und charakteristisch ist die Darstellung der Werte als Profile (s. S. 35), diese bringen die spezifischen chromatographischen Eigenschaften der Substanzen am besten zur Geltung.

---

x) Diese Korrektur ist meines Erachtens nur sinnvoll, wenn die Substanz, mit der die Korrektur vorgenommen werden soll, direkt neben der Probe aufgetragen wird, da die gleiche Substanz, an verschiedenen Startpunkten aufgetragen, oft mehr oder weniger große Schwankungen der hR_f-Werte zeigt.

xx) Diese Werte wurden aus mindestens 4 bis zu 8 Bestimmungen gemittelt.

Eine zusätzliche Hilfe bei schwierigen Identifizierungen ist die Anwendung spezifischer Reagenzien, entsprechende Hinweise werden bei der Besprechung der einzelnen Fraktionen gegeben.

Gelingt der Nachweis, ob ein Fleck einheitlich ist oder sich aus mehreren Substanzen zusammensetzt, schwer, weil in anderen Fließmitteln wieder Überlagerung mit anderen Substanzen eintritt, können entweder:

die Flecken der mehrmals aufgetragenen Probe nach dem Entwickeln von der Platte abgeschabt werden; das Sorbens wird mit Methanol oder Aceton eluiert, die Aufschwemmung filtriert und das Filtrat auf den Startpunkt einer zweiten, zu entwickelnden Platte aufgetragen.

oder

die Flecken im Ganzen herausgeschabt werden und trocken in ein entsprechendes Loch der Startzone einer zweiten Platte eingefügt werden [67] (Trockentransfer). Der vorhergehende Nachweis wird zweckmäßigerweise mit UV-Licht, eventuell mit Joddampf (und nachträglichem Erhitzen im Trockenschrank) durchgeführt, er darf nicht substanzzerstörend sein.

Detektion:

1 UV-Lampe, anregende Wellenlänge 254 und 350 nm

2 Joddampf, in eine Dünnschicht-Kammer werden einige Körnchen Jod gegeben und, wenn die Kammer mit Joddampf gesättigt ist, die entwickelte Platte für 5 - 60 Minuten eingestellt.

3 Kaliumpermanganat-Lösung: Lösung von 1 g $KMnO_4$ und 2 g NA_2CO_3 ohne Kristallwasser in 100 ml Wasser.

---

67) G. Székely, J. Chromatogr. 42, 543 (1969)

4 Jodplateat: 3 ml 10 %ige Lösung von H_2PtCl_6 und 100 ml 6 %ige Lösung von KJ in Wasser werden mit Wasser auf 200 ml ergänzt.

5 a Lösung von 75 mg Bromkresolgrün und 25 ml Bromphenolblau in 100 ml absolutem Äthanol.

b Lösung von 250 mg $KMnO_4$ und 0,5 g $Na_2CO_3 \cdot 10H_2O$ in 100 ml Wasser.

Vor dem Sprühen mischt man 9 Volumenteile der Lösung a mit 1 Teil b. Diese Lösung ist 5 - 10 Minuten haltbar.

6 Marquis-Reagenz: 2 Teile 40 %ige wässrige Lösung von Formaldehyd und 45 Teile Wasser werden mit 55 Teilen H_2SO_4 conc. gemischt. Nach Abkühlen der Lösung kann gesprüht werden. Die Lösung muß immer frisch zubereitet werden. Nach dem Besprühen wird die Platte 15 - 30 Minuten auf den Boden des Trockenschrankes gelegt, bei 105 - 110 Grad.

7 Jodlösung:

a Lösung von 1 g Jod und 1 g KJ in 100 ml Äthanol.

b 1 Teil Äthanol wird mit 1 Teil 25 %iger HCl gemischt. Es wird erst mit Lösung a gesprüht, nach Entwicklung der Flekken diese notiert und dann vorsichtig mit wenig Lösung b nachgesprüht.

8 Ninhydrin: 100 mg Eisessig werden in 50 ml abs. Äthanol gelöst und 10 ml Eisessig und 2 ml Collidin zugefügt. Nach dem Sprühen der Platte wird diese im Trockenschrank bei 105 - 110 Grad erhitzt bis zur Entwicklung der Flecken noch etwa 20 Minuten.

9 Diazotierte Sulfanilsäure:

a 450 mg Sulfanilsäure werden in 4,5 ml HCl conc. gelöst und mit Wasser auf 50 ml verdünnt.

b Lösung von 4,5 g $NaNO_2$ in 100 ml Wasser.

c Lösung von 10 % Na_2CO_3 ohne Kristallwasser in Wasser.

10 ml Lösung a werden mit 10 ml Lösung b gemischt und direkt vor dem Sprühen wird das gleiche Volumen der Lösung c hinzugegeben.

10 1 %ige Lösung von p-Dimethylaminobenzaldehyd in konz. Schwefelsäure. Nach 15 bis 30 Minuten werden die erzielten Färbungen notiert.

11 b Lösung von 0,1 g N-1-Naphthyläthylendiamin · 2 HCl in 100 ml Wasser.

a 0,1 %ige Lösung von $NaNO_2$ in 0,1 n Salzsäure. Diese Lösung muß jedes Mal frisch zubereitet werden.

Es wird erst mit Lösung a und dann mit b gesprüht.

12 Zwikker Reagenz : Lösung von 1 g $Co(NO_3)_2$ in absolutem Äthanol. Nach dem Besprühen wird die Platte mit einem Föhn getrocknet und dann in eine mit NH_3 gesättigte Kammer eingestellt. Die nach einiger Zeit auftretenden Färbungen werden notiert.

13 0,2 %ige Lösung von 1,3 · Naphthalindiol in einer Mischung von einem Teil Äthanol und einem Teil 20 %ige Schwefelsäure. Die Platten werden 5 - 15 Minuten in einem Trockenschrank bei 105 - 110 °C erhitzt.

14 a 3 g Mennige werden mit 100 ml Eisessig zwei Stunden geschüttelt, danach wird die Lösung filtriert.

b 0,1 %ige Lösung von Fuchsin in Methanol.

Die Platte wird mit Lösung a besprüht und nach 5 Minuten Warten mit Lösung b.

15 Phenolreagenz nach Folin-Ciocalteu (Merck). Nach dem Besprühen werden die entstandenen Farben notiert und nach dem Trocknen der Platte mit einem Föhn oder unter dem Abzug wird diese in eine mit NH_3-Dampf gesättigte Kammer gestellt bis sich die entsprechenden Substanzen blau anfärben und auch der Untergrund einen sehr schwach-blauen Farbton zeigt.

Reagenz 8 kann nicht auf basische Aluminiumoxid-Schichten gesprüht werden, es resultiert nur eine sehr schwache Färbung.

Reagenz 3 kann nicht bei alkalisch imprägnierten Kieselgel-Schichten angewendet werden, da die rot-violette Farbe des Plattengrundes sofort verblaßt. Auch bei Verwendung von Fertigplatten verblaßt der Untergrund schneller als auf Selbstgestrichenen, die Substanzzonen können jedoch noch wahrgenommen werden.

Bei Verwendung alkalischer Fließmittel müssen die alkalischen Rückstände sehr sorgfältig durch Trocknen entfernt werden, ehe mit Reagenz 3 oder 5 besprüht wird.

Reagenz 5 kann auf alkalisch-imprägnierten Kieselgelplatten auch nicht angewendet werden, da keine Farbdifferenzierung auf Grund unterschiedlicher pH-Werte von Substanzzonen und Plattenuntergrund erfolgt.

Beim Besprechen der Detektion der einzelnen Fraktionen werden nochmals entsprechende Hinweise über die Anwendung der Reagenzien gegeben.

3. Besprechung der einzelnen Fraktionen

3.1. Salzsaure (HCl-) Fraktion

Die methanolische Lösung der HCl-Fraktion wird mehrmals in unterschiedlicher Konzentration auf die Platten aufgetragen.

Arbeitsmethodik und Auswertung siehe III A 2, S. 65 ff.

Fließmittel: 1, 2, 3 und 4
Detektion: 1, 2, 3, 4, 5, 6 und eventuell 12

3.1.1. hR_f - Werte:

a = selbstgestrichen, Schichtdicke 0,25 mm
f = Fertigplatten

In Klammern gesetzte hR_f-Werte geben schwache Nebenflecke an, bei gleich starken Substanzzonen sind die Werte ohne Klammern angegeben.

Nr. Substanz	4 a	1 a	1 f	2 a	2 f	3 a	3 f
Gruppe I, hR_f in Fließmittel 4: 0 - 6							
31 Barbital	3 ± 0	36 ± 2	$24 \pm {}^{3}_{1}$	52 ± 2	$41 \pm {}^{2}_{3}$	72 ± 2	$63 \pm {}^{2}_{1}$
33 Benzoesäure	0 +	0 +	0 +	$12 \pm {}^{2}_{1}$	14 ± 1	71 ± 2	$62 \pm {}^{2}_{1}$
34 Bernsteinsäure	0	0	0	0	0	57 ± 2	$40 \pm {}^{4}_{3}$
22 Cyclohexylsulfaminsäure s. Text	0	0	0	0	0	(7 ± 2)	$(9 \pm {}^{1}_{0})$
				$12 \pm {}^{2}$	6 ± 1	$17 \pm {}^{2}$	18 ± 1
37 Dihyprylon	$6 \pm {}^{0}_{1}$	$41 \pm {}^{4}_{2}$	$31 \pm {}^{3}_{1}$	$54 \pm {}^{2}_{4}$	$51 \pm {}^{2}_{1}$	$61 \pm {}^{2}_{3}$	55 ± 2
38 Dipropylbarbitursäure	$3 \pm {}^{1}_{0}$	$48 \pm {}^{0}_{3}$	33 ± 2	$55 \pm {}^{1}_{2}$	$46 \pm {}^{1}_{2}$	75 ± 2	$66 \pm {}^{2}_{4}$
5 Diprophyllin	0	$4 \pm {}^{2}_{0}$	$3 \pm {}^{0}_{1}$	22 ± 2	21 ± 1	$20 \pm {}^{3}_{2}$	$20 \pm {}^{0}_{1}$
6 Dopropyzin	3 ± 0	16 ± 2	$12 \pm {}^{1}_{0}$	39 ± 2	37 ± 1	5 ± 1	6 ± 1
41 Guajakolglycerinäther	$4 \pm {}^{0}_{1}$	$21 \pm {}^{2}_{1}$	$14 \pm {}^{1}_{0}$	47 ± 2	$40 \pm {}^{2}_{3}$	$49 \pm {}^{1}_{2}$	43 ± 0
13 Kreosolsulfonsäure	0	0	0	0	(0)	$(10 \pm {}^{2}_{1})$	$(8 \pm {}^{1}_{2})$
		7 ± 2	2 ± 0	$11 \pm {}^{0}_{1}$	12 ± 2	$60 \pm {}^{4}_{2}$	$61 \pm {}^{2}_{1}$
		$(14 \pm {}^{3}_{2})$	(4 ± 0)	$25 \pm {}^{0}_{2}$	$26 \pm {}^{1}_{2}$	69 ± 2	
		$(20 \pm {}^{0}_{2})$	(9 ± 0)	$34 \pm {}^{3}_{4}$	(35 ± 2)		
				$(44 \pm {}^{5}_{1})$			

	4 a	1 a	1 f	2 a	2 f	3 a	3 f
25 Narcein	0	0	0	0	0	4^{+1}_{-1}	0
44 Natriidibunas	0	0	0	(38^{+3}_{-4})	34^{+1}_{-1}	22^{+2}_{-2}	23^{+4}_{-1}
				48^{+3}_{-3}	43^{+1}_{-1}	31^{+2}_{-1}	32^{+3}_{-0}
50 Phenobarbital	1^{+0}_{-0}	24^{+1}_{-0}	12^{+1}_{-1}	40^{+2}_{-2}	32^{+0}_{-2}	72^{+3}_{-2}	64^{+2}_{-0}
52 Saccharin	0	0	0	30^{+2}_{-3}	26^{+1}_{-1}	61^{+3}_{-0}	29^{+3}_{-2}
53 Salicylsäure	0	0	0	24^{+3}_{-2}	26^{+1}_{-3}	70^{+2}_{-3}	53^{+2}_{-2}
19 Sulfacetamid	0	0	0	10^{+1}_{-1}	11^{+1}_{-1}	46^{+3}_{-3}	45^{+0}_{-0}
28 Theophyllin	0	4^{+2}_{-0}	0	20^{+4}_{-2}	18^{+0}_{-0}	42^{+2}_{-2}	40^{+2}_{-2}
15 Noramidopyriniummethan-sulfonat-Natrium	0	0	0	10^{+0}_{-2}	14^{+0}_{-1}	3^{+0}_{-0}	6^{+3}_{-1}
	(9^{+2}_{-0})	34^{+2}_{-4}	32^{+2}_{-3}	46^{+3}_{-3}	48^{+2}_{-1}	23^{+2}_{-2}	28^{+6}_{-1}
	16^{+2}_{-1}	(44^{+2}_{-4})		(63^{+3}_{-4})	(58^{+2}_{-2})	(40^{+3}_{-3})	(47^{+2}_{-4})
	(30^{+2}_{-4})	(62^{+3}_{-1})				(52^{+3}_{-5})	
						(62^{+2}_{-3})	

Gruppe II, hR_f in Fließmittel 4: 8 - 35

	4 a	1 a	1 f	2 a	2 f	3 a	3 f
32 Äthoform	24^{+2}_{-3}	68^{+2}_{-2}	59^{+0}_{-1}	65^{+3}_{-2}	59^{+2}_{-4}	69^{+3}_{-2}	63^{+0}_{-0}
20 Aminophenazon	30^{+4}_{-2}	55^{+3}_{-2}	48^{+2}_{-3}	54^{+2}_{-2}	55^{+0}_{-2}	26^{+2}_{-1}	38^{+1}_{-1}
21 Benzylmorphin	9^{+3}_{-2}	11^{+2}_{-1}	9^{+1}_{-0}	21^{+4}_{-2}	23^{+2}_{-2}	6^{+0}_{-1}	6^{+1}_{-1}
43 Coffein	8^{+1}_{-0}	34^{+2}_{-2}	29^{+2}_{-2}	36^{+3}_{-0}	41^{+1}_{-0}	40^{+2}_{-2}	40^{+2}_{-1}
4 Dimethylphenyliminothiazolidin	28^{+2}_{-2}	38^{+4}_{-4}	37^{+1}_{-0}	53^{+3}_{-3}	52^{+0}_{-3}	3^{+0}_{-1}	4^{+0}_{-1}
39 Ethaverin	35^{+2}_{-2}	63^{+2}_{-2}	52^{+1}_{-0}	66^{+2}_{-3}	64^{+1}_{-2}	40^{+3}_{-3}	43^{+2}_{-3}
40 Guajakol	24^{+4}_{-4} s.Text	62^{+2}_{-2}	54^{+0}_{-1}	61^{+2}_{-3}	56^{+2}_{-3}	73^{+2}_{-2}	62^{+3}_{-4}
42 Khellin	(4^{+1}_{-1}) 21^{+2}_{-3}	52^{+2}_{-2}	46^{+0}_{-1}	58^{+2}_{-3}	57^{+2}_{-2}	62^{+3}_{-2}	54^{+2}_{-0}
46 Noscapin	33^{+2}_{-2}	68^{+2}_{-2}	56^{+1}_{-0}	60^{+2}_{-2}	57^{+4}_{-1}	24^{+2}_{-1}	31^{+2}_{-2}
48 Papaverin	15^{+2}_{-2}	42^{+2}_{-2}	39^{+1}_{-1}	54^{+2}_{-3}	53^{+2}_{-3}	(4^{+1}_{-1}) 22^{+2}_{-3} s.Text	29^{+1}_{-1}
17 Pipazetat	20^{+2}_{-2}	26^{+4}_{-2}	25^{+2}_{-1}	25^{+4}_{-2}	29^{+1}_{-2}	4^{+0}_{-2}	6^{+1}_{-1}

	4	1		2		3	
	a	a	f	a	f	a	f
Gruppe III, hR_f in Fließmittel 4: über 40							
30 Alimemazin	60^{+4}_{-2}	72^{+0}_{-2}	62^{+1}_{-1}	55^{+3}_{-2}	53^{+2}_{-2}	10^{+2}_{-1}	13^{+1}_{-1}
35 Bisolvon	73^{+2}_{-1}	87^{+3}_{-2}	71^{+1}_{-1}	73^{+4}_{-2}	66^{+1}_{-0}	49^{+3}_{-3}	58^{+3}_{-2}
3 Clofedanol	49^{+3}_{-4}	66^{+4}_{-2}	56^{+1}_{-0}	53^{+2}_{-0}	51^{+1}_{-2}	11^{+1}_{-0}	13^{+3}_{-1}
36 Dextromethorphan	41^{+1}_{-2}	28^{+2}_{-4}	24^{+1}_{-1}	32^{+2}_{-4}	34^{+4}_{-3}	16^{+2}_{-3}	14^{+1}_{-1}
23 Diphenhydramin	51^{+2}_{-3}	55^{+3}_{-3}	48^{+1}_{-1}	50^{+2}_{-2}	50^{+2}_{-2}	7^{+2}_{-2}	12^{+0}_{-1}
7 Doxylamin	41^{+3}_{-2}	45^{+3}_{-2}	42^{+1}_{-1}	40^{+3}_{-3}	42^{+2}_{-2}	3^{+0}_{-0}	3^{+1}_{-1}
24 Isoaminil	45^{+2}_{-3}	55^{+3}_{-2}	49^{+1}_{-1}	46^{+3}_{-3}	44^{+2}_{-0}	13^{+2}_{-2}	13^{+0}_{-1}
	62^{+0}_{-2}	76^{+4}_{-2}	65^{+0}_{-1}	64^{+0}_{-2}	60^{+2}_{-2}		
45 Normethadon	46^{+2}_{-4}	52^{+2}_{-4}	44^{+1}_{-0}	52^{+2}_{-2}	49^{+0}_{-0}	18^{+0}_{-1}	20^{+1}_{-1}
47 Oxeladin	54^{+3}_{-3}	62^{+4}_{-2}	54^{+1}_{-1}	46^{+3}_{-4}	44^{+1}_{-1}	8^{+0}_{-2}	13^{+0}_{-1}
49 Pentoxyverin	54^{+2}_{-2}	61^{+4}_{-2}	52^{+0}_{-1}	47^{+3}_{-4}	44^{+1}_{-1}	8^{+0}_{-2}	11^{+1}_{-1}
26 Phenyläthylessigsäure-diäthylaminoäthylester	63^{+2}_{-2}	79^{+2}_{-2}	65^{+2}_{-1}	63^{+1}_{-0}	60^{+2}_{-2}	12^{+2}_{-0}	16^{+1}_{-0}
51 Phenylbuttersäureguajakolester	61^{+3}_{-2}	79^{+1}_{-3}	65^{+0}_{-1}	72^{+2}_{-2}	63^{+3}_{-2}	79^{+2}_{-2}	71^{+0}_{-0}

	4 a	1 a	1 f	2 a	2 f	3 a	3 f
27 Phenyltoloxamin	46^{+3}_{-2}	56^{+3}_{-2}	49^{+1}_{-1}	45^{+4}_{-3}	44^{+2}_{-0}	8^{+2}_{-0}	12^{+1}_{-0}
18 Silomat	61^{+1}_{-0}	76^{+1}_{-2}	65^{+1}_{-0}	65^{+4}_{-2}	61^{+1}_{-2}	2^{+0}_{-1}	4^{+1}_{-1}
29 Tussukal	68^{+0}_{-1}	83^{+1}_{-3}	69^{+0}_{-1}	71^{+0}_{-3}	66^{+1}_{-2}	16^{+1}_{-2}	22^{+1}_{-0}
Bezugssubstanzen:							
Rh Rhodamin B	17^{+0}_{-2}	31^{+1}_{-3}	32^{+3}_{-2}	8^{+1}_{-0}	12^{+2}_{-1}	2^{+1}_{-1}	4^{+1}_{-2}
Bg Buttergelb	56^{+1}_{-3}	79^{+2}_{-3}	64^{+1}_{-1}	70^{+1}_{-2}	62^{+2}_{-4}	79^{+2}_{-3}	71^{+3}_{-1}

Bemerkungen zu den hR_f-Werten einiger Substanzen:

Die Substanzen Diphenhydramin (23), Phenyltoloxamin (27), Oxeladin (47) und Pentoxyverin (49) zeigen wegen ihres sehr ähnlichen chemischen Aufbaus kaum Unterschiede in den chromatographischen Eigenschaften. Oxeladin (47) und Pentoxyverin (49) lassen sich in keinem der untersuchten Fließmittel trennen, sie können nur durch geeignete Reagenzien bei der Detektion identifiziert werden (s. S. 95). Um den Auftrennungseffekt der anderen Substanzen hervorzuheben, müssen ebenfalls besondere Hinweise zur Detektion beachtet werden (s. S. 94). Zur besseren Übersicht über die Trenneigenschaften der Fließmittel gebe ich hier ein Trenn-Schema für diese Substanzen an:

	Fließmittel						
Trennung der	4	1		2		3	
Substanzen	a	a	f	a	f	a	f
23 - 27	+	-	-	+	+	-	-
23 - 47	-	+	+	+	+	-	-
23 - 49	-	(+)	(+)	+	+	-	-
27 - 47	+	+	+	-	-	-	-
27 - 49	+	(+)	(+)	-	-	-	-
47 - 49	-	-	-	-	-	-	-

Papaverin (48) wird durch Fließmittel 3 in zwei Flecke aufgetrennt. Da Papaverin in der HCl-Fraktion zum Teil als Hydrochlorid extrahiert wird, wäre es möglich, daß die Substanz, durch das saure Fließmittel bedingt, als Hydrochlorid und zum Teil als Acetat läuft. Beckelt und Choulis [68] berichten ausführlich über

68) A. H. Beckelt und N. H. Choulis, J. Pharmacy Pharmacol. 15, 236 T (1963)

die Zweiflecken-Bildung von Sympathicomimetica-Salzen bei Verwendung saurer Fließmittel, deren Säure-Anteil eine geringere Acidität besitzt als die zur Salzbildung benutzte Säure.

Die HCl-Fraktion von Natriidibunas (44) trennt sich bei Verwendung von Fließmittelsystemen in denen die Substanz wandert (2 und 3) auf selbstgestrichenen und auf Fertigplatten in zwei Substanzzonen auf. Die Ursache hierfür ist, daß die Substanz Natriidibunas nach Untersuchungen von Menard et al. [69] nicht nur aus dem von den Herstellern angegebenen Natrium-Salz der 2.6.-Di-(t-butyl)-naphthalin-4-sulfonsäure besteht, sondern daß es sich um ein Gemisch der Natrium-Salze der stellungsisomeren 2.6- und 2.7.-Di-(t-butyl)-naphthalinsulfonsäuren handelt. Offensichtlich findet mit diesen Fließmitteln eine Auftrennung der stellungsisomeren Sulfonsäuren statt.

Cyclohexylsulfaminsäure (22) zeigt auf selbstgestrichenen, in Fließmittel 3 entwickelten Platten zwei ineinander übergehende Substanzzonen, während bei Verwendung von Fließmittel 2 die meiste Substanz am Start bleibt und sich nur ein kleiner Teil der Substanz bis zum angegebenen hR_f-Wert als Schwanz hochzieht.

Isoaminil (24) trennt sich in drei Fließmittel dieser Fraktion in zwei Substanzzonen auf. In der WS-Fraktion zeigt ein Fließmittel sogar eine dreifache Auftrennung. Offensichtlich erfolgt durch diese Fließmittel eine Trennung der nicht einheitlichen Substanz Isoaminil (s. S. 148) in Stellungs- und Diastereomere.

Der HCl-Extrakt von Kreosolsulfonsäure (13) läßt sich in bis zu 4 Substanzen auftrennen. Es kann sich hier um die stellungsisomeren Sulfonsäuren handeln, wahrscheinlich werden jedoch auch Zersetzungsprodukte oder Verunreinigungen extrahiert.

---

69) M. Menard, L. Mitchell, J. Komlossy, A.M. Wrigley und F.L. Chubb, Canad. J. Chem. 39, 729 (1961)

Noramidopyriniummethansulfonsäure (15) zeigt bis zu 4 Flecke unterschiedlicher Konzentration, die Zersetzungsprodukte darstellen, die entweder von vornherein in der Reinsubstanz enthalten sind oder bei der Extraktion der wässrigen Phase bzw. beim Entwickeln der Platten entstehen.

Die uneinheitliche Zusammensetzung der drei zuletzt genannten Stoffe erschwert die Abtrennung und Identifizierung anderer Substanzen erheblich, vor allem da diese drei Stoffe auch in der weinsauren Fraktion als Gemische anfallen (s. S.105).

Guajakol (40) erscheint auf allen Platten der verschiedenen Fließmittelsysteme als großer diffuser Fleck, der relativ schwer nachzuweisen ist und deshalb keine gute Reproduzierbarkeit der hR_f-Werte gestattet. Die Größe des Fleckes ist jedoch ein Kriterium zur Identifizierung dieser Substanz.

Etwas diffus sind auch die Flecken von Phenylbuttersäureguajakolester, die hR_f-Werte lassen sich jedoch wesentlich besser reproduzieren.

In der HCl-Fraktion können auch Bestandteile ätherischer Öle anfallen, was bei der Identifizierung anderer Substanzen berücksichtigt werden muß. Daher wurden die hR_f-Werte einiger Hauptbestandteile ätherischer Öle ermittelt, die angegebenen Werte können jedoch nur als Richtwerte angesehen werden, da sie nur in einem Versuch ermittelt wurden.

	Fließmittel			
	4 a	1 f	2 f	3 f
Anethol	64	70	63	85
Campher	52	x	x	75
Eucalyptol	52	67	62	61
Menthol	58	68	63	72
Thymol	32	69	64	74

x Die Substanz ist mit den üblichen Sprühreagenzien nicht zu erfassen. Der Nachweis kann mit Reagenz 3 und zum Teil im UV-Licht erfolgen. (Anethol, Thymol)

3.1.2 Detektion

Hinweise zur Auswahl und Anwendung der Reagenzien:

In Fließmittel 1 entwickelte Platten dürfen auf keinen Fall im Trockenschrank getrocknet werden, bevor der Nachweis im UV-Licht erfolgt ist, da sonst der gesamte Plattengrund selbst Fluoreszenz löscht und den Nachweis schwach UV-absorbierender Substanzen verhindert. Bei Fertigplatten ist dieser Effekt wesentlich stärker ausgeprägt als bei selbstgestrichenen.

Schwach Fluoreszenz löschende Substanzen erscheinen häufig nach langem Trocknen der Platten als weiße statt violette Flecken im UV-Licht. Reagenz 3 kann für die in Fließmittel 1 entwickelten Platten nicht genommen werden, da der rote Farbton des Plattengrunds bevor alle Substanzen als weiß-gelbe Flecken erscheinen, nach braun umschlägt. Bei Fertigplatten geschieht dies so rasch, daß der rote Farbton oft gar nicht wahrgenommen werden kann.

Auch für die alkalisch imprägnierten in Fließmittel 4 entwickelten Kieselgel-Platten ist dieses Reagenz nicht geeignet. In beiden Fällen erfolgt statt dessen der Nachweis mit Joddampf, Reagenz 2. Die in diesen beiden Fließmitteln entwickelten Platten können auch nicht mit Reagenz 5 besprüht werden, da Plattengrund und Substanzzonen keine unterschiedliche Färbung ergeben.

Die mit Reagenz 4 auf den alkalisch imprägnierten, in Fließmittel 4 entwickelten Kieselgel-Platten auftretenden Färbungen schlagen relativ schnell nach gelb-weiß um, manche Substanzen zeigen sofort eine weiße Farbe, die übrigen Färbungen weichen auch stärker von den in den Tabellen angegebenen an.

Gang der Detektion:

Die in den Fließmitteln entwickelten Platten werden mit einem Föhn oder unter dem Abzug getrocknet, im UV-Licht betrachtet und dann 1 bis 2 Stunden im Trockenschrank bei 105 - 110 ^{o}C ge-

trocknet bis zur Entfernung aller Fließmittelrückstände. Vor allem beim Arbeiten mit Reagenz 5 muß darauf geachtet werden, daß alle sauren und basischen Rückstände entfernt sind.

Ein Teil der Platte mit der mehrmals aufgetragenen Probe wird nach dem Abkühlen mit einer Glasplatte abgedeckt und man besprüht dann:

die in Fließmittel 2 und 3 entwickelten Platten mit Reagenz 3. Nachdem die auftretenden Färbungen notiert worden sind, wird ein zweiter Teil der Platte mit Reagenz 4 behandelt.

die in Fließmittel 1 und 4 entwickelten Platten mit Reagenz 4 und gegebenenfalls ein anderer Teil der Platte mit spezifischen Reagenzien. Danach werden die Platten in eine Jodkammer gestellt (Reagenz 2). Nach der Detektion mit Joddampf können die Platten zum Entfernen des Jods in den Trockenschrank gelegt werden; der Vorgang ist zum Teil reversibel, es kann dann mit Reagenz 4 oder 6 nachgesprüht werden.

Die Reagenzien 1, 2, 3 und 4 reagieren mit vielen Substanzen, sind aber kaum spezifisch. Sind solche Nachweise nötig, so werden die Reagenzien 5, 6 und eventuell 12 angewendet. Nach dem Besprühen mit Reagenz 5 können die Platten auch in eine Jod-Kammer gestellt werden, die mit Jod reagierenden Substanzen heben sich als braune Flecken vom blauen Grund ab.

Tabellen

s. = sehr

s.s. = sehr schwach

\+ = auf den alkalisch-imprägnierten, in Fließmittel 4 entwickelten Platten zeigen diese Substanzen sofort eine weiß-gelbe Färbung

x = die Färbungen, die auf den in Fließmittel 1, 2 und 3 entwickelten Platten auftreten, schlagen schnell nach weiß-gelb um

Die bei Reagenz 3 angegebenen Zahlen geben die Minuten an, die vom Besprühen bis zum Sichtbarwerden eines Substanzfleckes vergehen.

Nr. Substanz	UV-Licht 254 nm	Detektion mit Reagenz 3	4	2
Plattengrund	grün, Flecken violett-lila	violett-rot Flecke gelb	s. rosa	beige-hellgelb
Gruppe I				
31 Barbital	s. schwach	-	-	s. s. braun
33 Benzoesäure	stark	40	-	s. s. braun
34 Bernsteinsäure	-	40	-	s. Text
22 Cyclohexylsulfaminsäure	-			
Fließmittel 1 und 4	-	40, Nachweis entfällt bei Fließm. 4	-	nach 1 Std. s. s. braun
Fließmittel 2	-	unterer Fleck 40, oberer negativ	-	beide Flecken nach 1 Std. s. s. braun
Fließmittel 3	-	40, als ein Fleck	-	nach 1 Std. beide Flecken als ein Fleck, s. s. braun
37 Dihyprylon	-	10	-	stark braun
38 Dipropylbarbitursäure	s. schwach	40	-	s. s. braun
5 Diprophyllin	s. stark	40	-	s. s. braun
6 Dipropyzin	s. stark	sofort	schwach blau - negativ	stark braun

Nr.	Substanz		UV-Licht 254 nm	Detektion mit Reagenz 3	4	2
41	Guajakolglycerinäther		s. schwach	10	-, in Fließmittel 4 gelb	s. s. braun
13	Kreosolsulfonsäure		Hauptflecke stark, Nebenfl. schwach, zweitunterster Fleck in Fließmittel 2 negativ:			
	Fließmittel 4		s. stark	entfällt	-	stark braun
	Fließmittel 1					
	a	f				
hR_f	0	0	stark	10	-	stark braun
	7	2	s. stark	sofort	-	braun
	übrige Flecke		s. schwach	etwa 10	-	s. braun
	Fließmittel 2					
	a	f				
hR_f	0	0	stark	sofort	-	braun
	11	12	-	sofort als ein	-	s. braun
	25	26	stark	Fleck mit dem nächsthöheren	-	braun
	34	35	schwach	5	-	braun
	44	-	s. schwach	sofort	-	s. braun

Nr. Substanz			Detektion mit Reagenz			
			UV-Licht 254 nm	3	4	2
13 Kreosolsulfonsäure						
Fließmittel 3						
	a	f				
hR_f	10	8	schwach	sofort	-	braun
	60	61	s. stark	10	-	s. braun
	69	-	s. stark	sofort	-	braun
25 Narcein			s. stark	10	s. s. lila	stark braun
44 Natriidibunas			stark, unterer Fleck in 2 a schwach	-	-	Flecken hell gegen den Untergrund, meist negativ
15 Noramidopyriniummethan-sulfonsäure						
Hauptflecke			s. stark	sofort	weiß	braun bis stark braun
Nebenflecke			s. schwach	10, meist negativ	-	s. s. braun
50 Phenobarbital			s. stark	-	-	s. s. braun
52 Saccharin			s. stark	40	-	-
53 Salicylsäure			blau, bei 350 nm Eigenfluoreszenz	sofort	-	stark braun
19 Sulfacetamid			s. stark	10	-	braun
28 Theophyllin			s. stark	40	-	s. s. braun

Nr. Substanz	UV-Licht 254 nm	Detektion mit Reagenz 3	4	2
Gruppe II				
32 Äthoform	s. stark	sofort	-	braun
20 Aminophenazon	s. stark	sofort	weiß, in Fließmittel 3 erst blau, dann weiß	stark braun
21 Benzylmorphin	stark	sofort	lila	stark braun
43 Coffein	s. stark	40	-	s. s. braun
4 Dimethylphenyl-thiazolidin	s. schwach	10	violett + x	braun
39 Ethaverin	s. stark	10	violett	braun
40 Guajakol	s. schwach, meist negativ	10, wenn sehr diffuser Fleck bis zu 40	negativ, in Fließmittel 4 violett-gelb	s. s. braun, oft negativ
42 Khellin	s. stark	sofort	-	braun
46 Noscapin	blau, bei 350 nm Eigenfluoreszenz	sofort	violett	stark braun
48 Papaverin	stark	10, in Fließm. 3 beide Flecken 10	violett	stark braun
17 Pipazetat	s. stark	sofort	lila-violett	stark braun

Nr.	Substanz	UV-Licht 254 nm	Detektion mit Reagenz 3	4	2
Gruppe III					
30	Alimemazin	s. stark	sofort	lila	braun
35	Bisolvon	stark	10	blau-lila	braun
3	Clofedanol	s. schwach	10	violett	braun
36	Dextromethorphan	s. schwach	10	lila	stark braun
23	Diphenhydramin	s. schwach	sofort	violett +	braun
7	Doxylamin	s. stark	10	lila	stark braun
24	Isoaminil	alle Flecken s. schwach, oft negativ	alle Flecken 10	alle Flecken violett	alle Flecken braun
45	Normethadon	s. schwach	10	violett	braun
47	Oxeladin	s. schwach, oft negativ	10	blau-lila +	braun
49	Pentoxyverin	s. schwach, oft negativ	10	blau-lila +	braun
26	Phenyläthylessigsäurediäthylaminoäthylester	s. schwach	10	lila + x s. Text	braun

Nr.	Substanz	UV-Licht 254 nm	Detektion mit Reagenz 3	4	2
51	Phenylbuttersäure-guajakolester	s. schwach	sofort	negativ, in Fließm. 4 weiß	braun
27	Phenyltoloxamin	s. schwach	sofort	lila $^{+}$	braun
18	Silomat	s. schwach	sofort	lila-violett	braun
29	Tussukal	s. schwach	sofort	violett $^{+ x}$	braun

Detektion mit Reagenz

Nr. Substanz Plattengrund Gruppe I	5 hellgrün	6 farblos
31 Barbital	-	-
33 Benzoesäure	gelb	-
34 Bernsteinsäure	stark gelb	-
22 Cyclohexylsulfaminsäure	alle Flecken schwach gelb, unterer Fleck in Fließm. 2 etwas kräftiger	-
37 Dihyprylon	-	-
38 Dipropylbarbitursäure	-	-
5 Diprophyllin	-	-
6 Dopropyzin	blau	schwach rosa-negativ
41 Guajakolglycerinäther	schwach blau	stark lila
13 Kreosolsulfonsäure	alle Flecken blau außer zweitoberster Fleck bei 3 a	-
25 Narcein	blau	rosarot
44 Natriidibunas	s.s. gelb - negativ -	-
15 Noramidopyriniummethansulfonsr. Na	Hauptflecke blau, Nebenflecke s.s. blau	-
50 Phenobarbital	-	-
52 Saccharin	s.s. gelb	-
53 Salicylsäure	stark gelb	negativ, bei Fließm. 3 schwach rosa
19 Sulfacetamid	grünblau	-
28 Theophyllin	-	-

Detektion mit Reagenz

Nr.	Substanz	5	6
Gruppe II			
32	Äthoform	grünblau	-
20	Aminophenazon	blau	negativ, bei Fließm. 3 und 4 schwach rosa
21	Benzylmorphin	blau	lila-grau
43	Coffein	-	-
4	Dimethylphenyl-iminothiazolidin	blau	-
39	Ethaverin	blau	negativ, bei Fließm. 3 und 4 s. s. gelbgrün
40	Guajakol	s. s. blau, wenn Fleck sehr diffus negativ	schwach violett-grau
42	Khellin	blau	sofort nach Besprühen gelb, bleibt auch beim Trocknen
46	Noscapin	blau	rosarot
48	Papverin	blau	schwach türkis-beige
17	Pipazetat	blau	hellgrün
Gruppe III			
30	Alimemazin	blau	nach Besprühen erdbeer-rot, nach Trocknen lila
35	Bisolvon	blau	-
3	Clofedanol	blau	negativ, selten s. s. rosa
36	Dextromethor-phan	lila	türkis
23	Diphenhydramin	blau	gelb
7	Doxylamin	blau	-
24	Isoaminil	alle Flecken blau	-
45	Normethadon	blau	-
47	Oxeladin	blau	-

Nr.	Substanz	5	6
49	Pentoxyverin	blau	violett
26	Phenyläthylessigsäurediäthylaminoäthylester	blau	-
51	Phenylbuttersäureguajakolester	schwach blau	grau-violett
27	Phenyltoloxamin	blau	rosarot
18	Silomat	blau	-
29	Tussukal	blau	hellblau bis negativ

Bemerkungen zu den Reaktionen einiger Substanzen:

Beim Nachweis von Bernsteinsäure (34) mit Jod-Dampf (Reagenz 2) setzt sich nach etwa einer Stunde eine helle Substanzzone gegen den relativ dunkleren Plattengrund ab.

Phenyläthylessigsäurediäthylaminoäthylester (26) gibt, wenn die Platte sehr lange vor der Detektion getrocknet wurde, oft keine Reaktion mehr mit Jodplateat (Reagenz 4) und ist auch im UV-Licht nicht als Fleck zu erkennen.

An dem Startfleck nachgewiesene Substanz kann durch Hängenbleiben eines Stoffes, der eigentlich in dem verwendeten Fließmittel wandert, verursacht werden. Dieser Effekt tritt vor allem bei dem sehr schnell laufendem Fließmittel 1 auf. Wird vermutet, daß es sich bei dieser Zone am Startfleck um eine zusätzliche, noch nicht identifizierte Substanz handelt, so muß mit Fließmitteln gearbeitet werden, in denen diese sich vom Startfleck löst. Von den in dieser Fraktion bearbeiteten Substanzen zeigt nur Narcein in allen Fließmitteln einen hR_f-Wert von 0, es kann aber durch die Wanderung in Fließmittel 6 (WS-Fraktion) nachgewiesen werden.

Die schon besprochenen Schwierigkeiten bei der Auftrennung der dritten Gruppe (s. S. 81) kann erleichtert werden durch die mit Mar-

quis-Reagenz (Nr. 6) auftretenden Reaktionen und durch die Detektion mit Reagenz 3 (s. S. 112). Oxeladin (47) zeigt mit Reagenz 6 keine Reaktion, während Pentoxyverin (49) das in allen Fließmitteln die gleichen hR_f-Werte zeigt, mit violetter Farbe reagiert und sich damit wiederum von den Farben der Substanzen Diphenhydramin (23) und Phenyltoloxamin (27) unterscheidet.

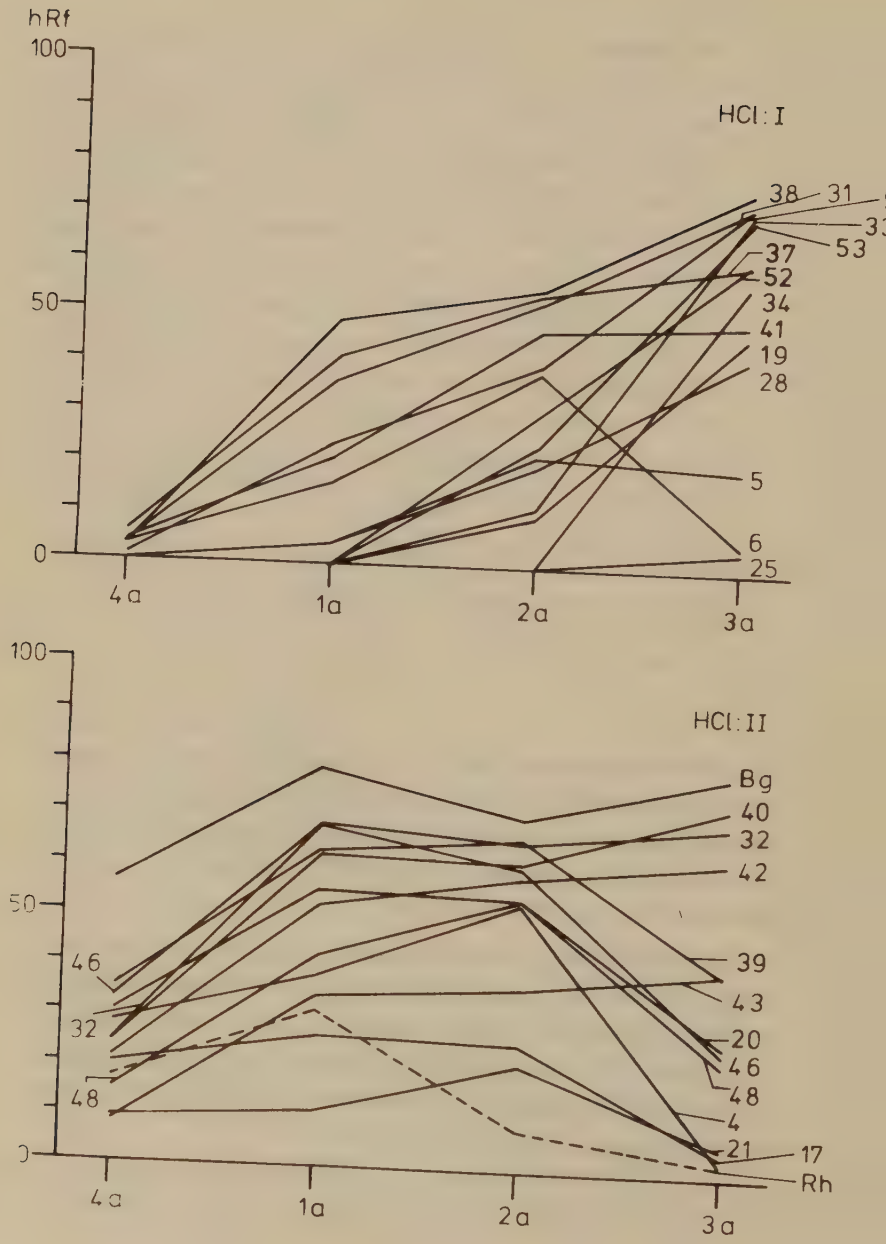
Die Substanzen Barbital (31), Dipropylbarbitursäure (38) und Phenobarbital (50) können mit den hier angewendeten Nachweismethoden nur im UV-Licht erfaßt werden. Um diesen Nachweis eindeutig zu gestalten, kann sehr viel Substanz aufgetragen werden, die Fleckenform bleibt dabei immer noch rund. Der sonst gebräuchliche Nachweis von Barbituraten mit Zwikkers Reagenz (12) fällt bei Mengen von 20 - 30 µg negativ aus, es sind keine Farbtöne in den Tabellen angegeben.

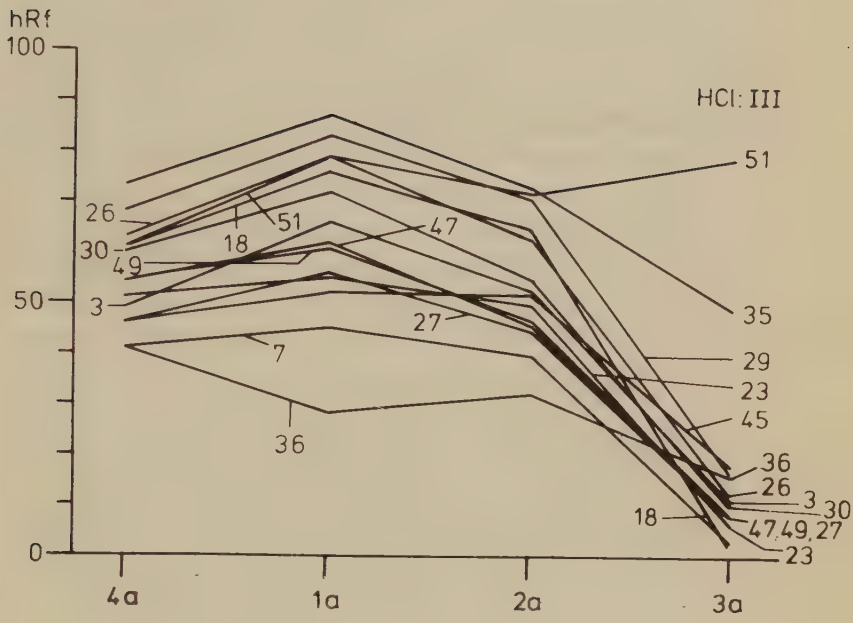
Alimemazin (30) zeigt nach dem Trocknen der Platte, ohne Anwendung eines Reagenzes bereits eine Rotfärbung.

3.1.3. Profile

Für die Zeichnungen der Profile wurden die unter a (selbstgestrichene Platten, Schichtdicke 0,25 mm) angegebenen Werte verwendet, diese ziehen sich über einen größeren Bereich hin als die mit Fertigplatten ermittelten Werte (s. S. 32), wodurch die Auftrennung der großen Gruppen der HCl-Fraktion erleichtert wird.

Die Extrakte der Substanzen Cyclohexylsulfaminsäure (22), Kreosolsulfonsäure (13), Natriidibunas (44), Noramidopyriniummethansulfonat-Natrium (15) und Isoaminil (24) zeigen nach dem Entwickeln in den meisten Fließmitteln mehrere Flecken (s. S. 82 ff). Die hR_f-Werte dieser Substanzzonen sind wegen der sonst resultierenden Unübersichtlichkeit der Zeichnungen hier nicht wiedergegeben.


hRf
100
50
0
HCl: I
38
31
53
37
52
34
41
19
28
5
6
25
4a
1a
2a
3a
100
50
0
HCl: II
Bg
40
32
42
39
43
20
46
48
4
21
17
Rh
46
32
48
4a
1a
2a
3a


hRf
100
50
0
HCl: III
26
30
49
3
51
18
47
27
7
36
51
35
29
23
45
36
26
3
30
18
47
49
27
23
4a
1a
2a
3a

In der salzsauren Gruppe wurde kein Fließmittel verwendet, das eine reine Verteilungschromatographie bewirkt.

Die Übergänge in der Polarität der Verbindungen sind hier so fließend und die Verbindungen oft so ähnlich, daß die Umkehrung der hR_f-Werte bestimmter Substanzgruppen, die bei der Verteilung erreicht wird, zwar recht charakteristisch ist, die Werte innerhalb der Gruppen aber fast gleich sind. Auch Aluminiumoxid war hier nicht verwendbar, da es eine Nivellierung der hR_f-Werte innerhalb einer Gruppe bewirkt und so auch keine Differenzierung erlaubt. Da in dieser Fraktion Säuren, Neutralstoffe und Basen anfallen, kann man bessere Differenzierungen und Gruppeneinteilungen durch Anwendung saurer und basischer Fließmittel und deren Kombination mit sauren oder basischen Sorbentien erreichen.

Der in Fließmittel 4 enthaltene hR_f-Wert bestimmt die Gruppenzugehörigkeit der Substanz. Die Substanzen der Gruppe I (Säuren, stark polare Neutralstoffe und Basen) wandern auf den alkalisch imprägnierten Schichten praktisch nicht, die Substanzen der Gruppe II (Neutralstoffe und Basen geringerer Polarität) wandern bis etwa zur Mitte der Platte, während die hR_f-Werte der Substanzen der III. Gruppe (relativ unpolare Neutralstoffe und Basen) in der oberen Hälfte der Platte liegen.

Auf den nicht imprägnierten sauren Kieselgel-Schichten wandern dann auch die schwachen Säuren (Barbiturate) und polaren Neutralstoffe mit allen Fließmitteln. Fließmittel 1 bewirkt die stärkste Streuung aller hR_f-Werte der Substanzen, hier überwiegt jedoch der Adsorptionsmechanismus, während bei Fließmittel 2 der Verteilungsmechanismus überwiegt und zum Teil eine Umkehr der hR_f-Werte bewirkt. Hier fallen die Werte der III. Gruppe ab, die der I. Gruppe dagegen steigen an. Dieser Effekt tritt noch stärker auf beim Übergang von Fließmittel 2 zu 3, während der Zusatz von Basen bzw. das Arbeiten mit Ammoniak-Atmosphäre die basischen Substanzen frei macht und die Säuren in gewissem Umfang bindet, bewirkt bei Fließmittel 3 der Zusatz von Essigsäure das Gegenteil. Die Substanzen der III. Gruppe wandern kaum (bis

auf einen Neutralstoff und die offensichtlich sehr schwach basische Substanz Bisolvon), die der I. Gruppe dagegen zeigen die höchsten hR_f-Werte (mit Ausnahme der polaren Base Dopropyzin, deren hR_f-Wert in Fließmittel 3 stark abfällt).

Die Substanzen der II. Gruppe nehmen jeweils eine Mittelstellung ein, sie entsprechen in ihrem chromatographischen Verhalten teils den Substanzen der I., teils denen der III. Gruppe.

3.2. Weinsaure (WS-) Fraktion

Die methanolische Lösung der WS-Fraktion wird mehrmals in unterschiedlicher Konzentration auf die Platten aufgetragen.

Arbeitsmethodik und Auswertung siehe III A 2, S. 65 ff.

Fließmittel: 2, 5, 6 und 7
Detektion: 1, 2, 3, 4, 6, 9 und 11

Falls ein Präparat untersucht wird, das Cholinsalicylat enthält, kann wegen der sehr großen Konzentration, in der diese Substanz enthalten ist, auch Salicylsäure in der WS-Fraktion anfallen (s. S. 24). Salicylsäure wurde jedoch in dieser Fraktion nicht untersucht.

3.2.1. hR_f - Werte

a = selbstgestrichen, Schichtdicke 0,25 mm
b = selbstgestrichen, Schichtdicke unter 0,25 mm
f = Fertigplatte

* = schwache
*** = starke
Schwanzbildung

In Klammern gesetzte hR_f-Werte geben schwache Nebenflecke an.

Fließmittel

Nr. Substanz	5 b	5 f	2 b	2 f	6 a	6 b	7 a	7 b
Gruppe I, hR_f in Fließmittel 5: 0 - 10								
34 Bernsteinsäure	0	0	0	0	0	0	0	0
22 Cyclohexylsulfaminsäure	0	0	14^{+2}_{-1}	6 ± 1	0	11^{+4}_{-0}	0	7 ± 2 ***
5 Diprophyllin	7 ± 0	4 ± 0	14^{+2}_{-0}	21 ± 1	50 ± 1	54^{+1}_{-2}	0	0
13 Kreosolsulfonsäure	0	0	0 + s. Text	(0) 14^{+1}_{-0} (26$^{+2}_{-1}$) (35$^{+0}_{-1}$)	72 ± 2	76^{+2}_{-1}	0	0
25 Narcein	0	0	0	0	39 ± 2	38 ± 2	0	0
19 Sulfacetamid	0	0	9^{+0}_{-1}	11 ± 1	70^{+1}_{-2}	75 ± 2	0	0
28 Theophyllin	3^{+0}_{-1}	1 ± 0	16 ± 2	18 ± 0	73 ± 2	71 ± 1	0	0
Gruppe II, hR_f in Fließmittel 5: 20 - 71, auf Fertigplatten 20 - 60								
1 Äthylmorphin	35^{+3}_{-2}	25 ± 1	11^{+2}_{-1}	19 ± 1	24^{+2}_{-1}	26 ± 2	37^{+2}_{-3}	33 ± 3
20 Aminophenazon	71 ± 1	56 ± 2	46^{+4}_{-2}	55^{+0}_{-2}	63^{+2}_{-4}	62 ± 2	71 ± 1	74^{+1}_{-2}

	5		2		6		7	
	b	f	b	f	a	b	a	b
21 Benzylmorphin	32^{+0}_{-1}	25^{+3}_{-2}	14 ± 2	23 ± 2	24 ± 1	27 ± 2	41^{+2}_{-1}	35^{+2}_{-1}
34 Codein	34^{+0}_{-2}	24 ± 1	11^{+2}_{-0}	20^{+2}_{-1}	24^{+2}_{-3}	26^{+1}_{-2}	31^{+2}_{-3}	28 ± 2 *
6 Dopropyzin	30^{+0}_{-1}	21 ± 2	28 ± 2	37 ± 1	62^{+3}_{-2}	61^{+1}_{-2}	0	0
15 Noramidopyriniummethan-sulfonsaures Natrium	58^{+1}_{-3}	(0)	34 ± 3	(12^{+1}_{-0})	55^{+1}_{-0}	54 ± 0	48^{+0}_{-1}	++ s. Text
		(15^{+1}_{-0})		47 ± 1	(78^{+1}_{-2})	(77^{+2}_{-1})		
		42 ± 1						
		(53^{+3}_{-2})						
17 Pipazetat	66^{+1}_{-3}	46 ± 2	11^{+2}_{-1}	29^{+1}_{-2}	24^{+3}_{-1}	24^{+0}_{-2}	63 ± 2	57^{+6}_{-2}
		(60^{+0}_{-1})						
Gruppe III, hR_f in Fließmittel 5: über 71, auf Fertigplatten über 60								
3 Clofedanol	84 ± 2	63^{+2}_{-3}	42^{+4}_{-3}	51^{+1}_{-2}	41^{+1}_{-0}	44^{+2}_{-0}	72 ± 2	68^{+4}_{-3}
23 Diphenhydramin	84^{+3}_{-6}	63^{+2}_{-1}	36 ± 3	50 ± 2	40^{+0}_{-1}	42 ± 2	72 ± 2	71 ± 2
11 Etafedrin	84^{+5}_{-2}	62^{+2}_{-1}	30^{+2}_{-3}	39^{+3}_{-1}	29^{+2}_{-3}	38^{+4}_{-4} ×××+++ s. Text	55^{+0}_{-1}	59^{+2}_{-1} ×××

	5		2		6		7	
	b	f	b	f	a	b	a	b
24 Isoaminil-Base	79^{+4}_{-4}	59^{+2}_{-2}	28^{+2}_{-2}	44^{+2}_{-0}	39^{+1}_{-2}	36^{+2}_{-3}	73^{+2}_{-2}	70^{+2}_{-3}
	92^{+2}_{-6}	71^{+1}_{-1}	54^{+1}_{-2}	60^{+2}_{-2}	51^{+0}_{-2}	54^{+2}_{-2}	78^{+2}_{-2}	78^{+2}_{-5}
					58^{+0}_{-1}	61^{+1}_{-1}		
26 Phenyläthylessigsäure-diäthylaminoäthylester	98^{+0}_{-0}	72^{+2}_{-2}	52^{+2}_{-3}	60^{+2}_{-2}	53^{+3}_{-1}	60^{+1}_{-2}	77^{+3}_{-2}	79^{+2}_{-2}
27 Phenyltoloxamin	80^{+2}_{-4}	57^{+3}_{-2}	30^{+3}_{-3}	44^{+2}_{-0}	41^{+1}_{-1}	42^{+4}_{-2}	72^{+2}_{-2}	72^{+3}_{-3}
18 Silomat	96^{+0}_{-2}	72^{+2}_{-1}	51^{+1}_{-2}	61^{+2}_{-1}	46^{+0}_{-2}	42^{+2}_{-0}	72^{+2}_{-2}	76^{+4}_{-2}
29 Tussukal	97^{+1}_{-2}	73^{+1}_{-1}	68^{+2}_{-2}	66^{+2}_{-2}	64^{+3}_{-2}	71^{+4}_{-2}	78^{+2}_{-2}	79^{+2}_{-2}
Bezugssubstanzen:								
Rh Rhodamin B	44^{+4}_{-4}	38^{+4}_{-4}	4^{+2}_{-2}	13^{+2}_{-2}	44^{+3}_{-1} *	48^{+1}_{-3} *	26^{+5}_{-2}	24^{+2}_{-3}
Bg Buttergelb	93^{+2}_{-2}	69^{+3}_{-2}	64^{+4}_{-4}	61^{+1}_{-2}	68^{+0}_{-0}	72^{+0}_{-0}	76^{+2}_{-2}	78^{+2}_{-2}

Bemerkungen zu den hR_f-Werten einiger Substanzen:

\+ Kreosolsulfonsäure zeigt zwei Substanzflecke in diesem Fließmittel, der erste Fleck zieht sich vom Start bis zu einem hR_f-Wert von 20, der zweite Fleck von 20 bis 29. Die Flecken können mit UV-Licht und Reagenz 3 erfaßt werden.

++ Die Substanz zieht sich als langer Fleck vom Start bis zu einem hR_f-Wert von 54 hin.

+++ Die in 6 b entwickelte Substanz Etafedrin war offensichtlich schon stark zersetzt, nur so läßt sich die starke Schwanzbildung erklären, die eine genaue Auswertung des hR_f-Wertes nicht zuläßt. Bei der Wiederholung mit frischer Substanz (6 a) gab die Substanz einen kleinen, runden Fleck ohne Schwanzbildung.

In Fließmittel 5 entwickelte selbstgestrichene Platten ergeben für alle Substanzen relativ große Abweichungen der jeweiligen hR_f-Werte. Die gleiche Substanz läuft, in der Mitte der Platte aufgetragen, weiter, als wenn sie am Rande der Platte aufgetragen wird. Deshalb wurden die Substanzen mindestens 5 cm vom Rand aufgetragen; die so ermittelten hR_f-Werte sind hier angegeben. Die mit Fertigplatten ermittelten hR_f-Werte zeigen diese auffallende Abweichung nicht.

Zur Identifizierung der Arzneimittel innerhalb der dritten Gruppe arbeitet man am besten mit Vergleichssubstanzen. Die Trennung Diphenhydramin (23) - Phenyltoloxamin (27) gelingt mit Fließmittel 5 auf Fertigplatten und Fließmittel 2 auf selbstgestrichenen und Fertigplatten, wenn besondere Hinweise bei der Detektion beachtet werden (s. S. 112).

Die Trennung von Clofedanol (3) - Diphenhydramin (23) gelingt bei Verwendung der Fließmittel der WS-Fraktion kaum, eine Unterscheidung kann jedoch mit Sprühreagenzien getroffen werden (s. S. 112). Die Substanzen werden außerdem durch Fließmittel 1 der HCl-Fraktion getrennt.

Isoaminil (24) wird auch durch die in der WS-Fraktion verwendeten Fließmittel in mehrere Flecke aufgetrennt. In Fließmittel 2, 5 und 7 entwickelte Platten zeigen zwei Flecke, während in Fließmittel 6 entwickelte, alkalisch imprägnierte Kieselgelplatten drei Flecke zeigen. Dieses Auftreten eines zusätzlichen Fleckes ist ein Kriterium zur Identifizierung von Isoaminil. Die Tatsache, daß diese Substanz nicht einheitlich ist, wirkt sich auch in der WS-Fraktion erschwerend auf die Trennung der anderen, in der III. Gruppe dieser Fraktion anfallenden Substanzen aus. Die vollständige chromatographische Trennung aller Substanzen der III. Gruppe ist nur möglich, wenn die drei Isomeren des Isoaminils nicht anwesend sind. Zur Zeit sind allerdings keine Präparate im Handel, die eine Kombination von Isoaminil mit anderen Substanzen dieser Gruppe enthalten.

Da auch Kreosolsulfonsäure (13) und Noramidopyriniummethansulfonat-Natrium in dieser Fraktion nicht als einheitliche Substanzen anfallen, treten die gleichen Schwierigkeiten bei der chromatographischen Trennung auf, wie beim Bearbeiten der HCl-Fraktion (s. S. 82 ff.).

Die Substanzpaare

Äthylmorphin (1) - Codein (12)
und
Aethylmorphin (1) - Benzylmorphin (21)
Kreosolsulfonsäure (13) - Sulfacetamid (19)

waren nicht zu trennen. Zwischen den Substanzen des ersten Paares kann auch mit Sprühreagenzien nicht unterschieden werden, hier liegt die einzige Möglichkeit zur Unterscheidung in den Aussagen der Spektren. S. Band II. Die Identifizierung der beiden Substanzen des dritten Paares ist mit Sprühreagenzien möglich (s. S. 128), außerdem trennt Fließmittel 3 der HCl-Fraktion diese Substanzen auf. Da in der HCl-Fraktion nur Benzylmorphin, nicht aber Äthylmorphin anfällt, ist eine Auftrennung dieses Paares möglich.

In der WS-Fraktion können auch Bestandteile ätherischer Öle anfallen, was bei der Identifizierung anderer Substanzen berücksichtigt werden muß. Deshalb wurden die hR_f-Werte einiger Hauptbestandteile ätherischer Öle ermittelt; die angegebenen Werte können jedoch nur als Richtwerte angesehen werden, da sie nur in ein bis zwei Versuchen ermittelt wurden.

	Fließmittel			
Substanz	5 f	2 f	6 a	7 a
Anethol	82	63	64	77
Campher	x	x	5	68
Eucalyptol	x	62	31	x
Menthol	70	63	15	76
Thymol	69	64	21	66

x Substanz ist hier mit den üblichen Reagenzien nicht zu erfassen.

Der Nachweis kann mit Reagenz 3 oder im UV-Licht erfolgen (Anethol, Thymol).

3.2.2. Detektion

Hinweise zur Auswahl und Anwendung der Reagenzien:

In Fließmittel 6 entwickelte alkalisch imprägnierte Kieselgelplatten zeigen beim Betrachten im UV-Licht eine Frontenbildung, die quer, in der Höhe von etwa 80 mm über die ganze Platte verläuft; auch mit Jod-Dampf (Reagenz 2) wird diese Front sichtbar.

Diese alkalischen Platten dürfen auf keinen Fall vor dem Betrachten im UV-Licht im Trockenschrank getrocknet werden, da sonst der gesamte Plattenuntergrund selbst die Fluoreszenz löscht und viele Substanzen keinen Nachweis mehr geben. Reagenz 3 kann bei diesen Platten nicht verwendet werden (s. S. 33), statt dessen kann der Nachweis mit Jod-

dampf (2) erfolgen. Das alkalische Sorbens und die Reste Pyridin auf den in Fließmittel 7 entwickelten Platten verursachen ein schnelles Umschlagen der mit Reagenz 4 erzielten Färbungen nach weiß, außerdem weichen die Farben stärker von den in den Tabellen angegebenen ab (s.S. 70).

Gang der Detektion:

Die in Fließmittel 2, 5 und 6 entwickelten Platten werden mit einem Föhn oder unter dem Abzug getrocknet, im UV-Licht betrachtet und dann ein bis zwei Stunden in den Trockenschrank gelegt, bis alle Fließmittelrückstände entfernt sind.

Die in Fließmittel 7 entwickelten Platten müssen ein bis zwei Stunden im Trockenschrank getrocknet werden, bis ein Betrachten im UV-Licht möglich ist. Das immer noch in Spuren enthaltene Pyridin wirkt jedoch selbst Fluoreszenz löschend und läßt mittel und schwach absorbierende Substanzen meist nicht erkennen.

Ein Teil der Platte mit der mehrmals aufgetragenen Probe wird nun mit einer Glasplatte bedeckt. Man besprüht dann:

die in Fließmittel 2, 5 und 7 entwickelten Platten mit Reagenz 3. Nachdem die auftretenden Flecken notiert worden sind, wird ein zweiter Teil der Platte mit Reagenz 4 besprüht.

die in Fließmittel 6 entwickelten Platten mit Reagenz 4 und gegebenenfalls mit anderen, spezifischen Reagenzien. Die Flecken werden notiert und die Platten dann in eine Jodkammer (2) gestellt. Anschließend kann die Platte in den Trockenschrank gelegt werden zur Entfernung des Jods und mit Reagenz 4 oder 6 nachgesprüht werden.

Die Reagenzien 1, 2, 3 und 4 reagieren mit vielen Substanzen, sind also kaum spezifisch. Sind spezifische Nachweise nötig, so werden die Reagenzien 6, 8, 9 und 11 angewendet.

Tabellen

s. = sehr

s. s. = sehr schwach

x = Farben schlagen auf den in Fließmittel 7 entwickelten Platten besonders schnell nach weiß um

\+ = Farben schlagen auf allen Platten schnell nach weiß um

Die bei Reagenz 3 angegebenen Zahlen geben die Minuten an, die vom Besprühen bis zum Sichtbarwerden eines Substanzfleckes vergehen.

Nr. Substanz	Detektion mit			
Plattengrund	UV-Licht 254 nm	3	4	2
	grün fluoreszierend, Flecken violett-lila	violett-rot alle Flecken gelb	s. rosa	beige-hellgelb
1 Äthylmorphin	stark	sofort	lila	stark braun
20 Aminophenazon	s. stark	sofort	weiß	stark braun
21 Benzylmorphin	stark	sofort	lila	stark braun
34 Bernsteinsäure	-	40	-	s. s.
3 Clofedanol	schwach	10	violett	braun
12 Codein	stark	sofort	lila	stark braun
22 Cyclohexylsulfaminsäure	-	s. Text	-	s. Text
23 Diphenhydramin	s. schwach	sofort	lila	braun
5 Diprophyllin	s. stark	40	-	s. braun
6 Dopropyzin	s. stark	sofort	schwach blau - negativ	stark braun
13 Kreosolsulfonsäure	stark	sofort, alle Flecken	-	Hauptfleck braun, Nebenfleck schwach-negativ
11 Etafedrin	schwach	10	s. Text	braun
24 Isoaminil	alle Flecken s. schwach	alle Flecken 10	alle Flecken lila x	alle Flecken braun

Nr.	Substanz	Detektion mit UV-Licht 254 nm	3	4	2
25	Narcein	s. stark	10	schwach blau - negativ s. Text	stark braun
15	Noramidopyriniummethansulfonsr. Na	s. stark, Nebenflecke schwach	sofort, Nebenflecke meist negativ	weiß, Nebenfl. meist negativ	stark braun, Nebenflecke schwach
26	Phenyläthylessigsäurediäthylaminoäthylester	s. schwach	10	blau-lila x +	braun
27	Phenyltoloxamin	s. schwach	sofort	lila x	braun
17	Pipazetat	stark	sofort	lila	stark braun
18	Silomat	schwach	sofort	lila	braun
19	Sulfacetamid	stark	10	-	braun
28	Theophyllin	stark	40	-	s. s. braun
29	Tussukal	schwach	sofort	lila +	braun

Nr.	Substanz	Detektion mit Reagenz 6	9	11
1	Äthylmorphin	lila-grau	s. s. gelb	-
20	Aminophenazon	-	s. s. gelb	-
21	Benzylmorphin	lila-grau	s. s. gelb	-
34	Bernsteinsäure	-	-	-
3	Clofedanol	-	-	-
12	Codein	lila-grau	s. s. gelb	-
22	Cyclohexyl-sulfaminsäure	-	-	-
23	Diphenhydramin	kräftig gelb	-	-
5	Diprophyllin	-	-	-
6	Dopropyzin	-	-	-
11	Etafedrin	-	-	-
13	Kreosolsulfonsr.	-	kräftig gelb	-
24	Isoaminil	alle Flecken negativ	alle Flecken negativ	alle Flecken negativ
25	Narcein	rostrot	s. s. hell-braun	-
15	Noramidopy-riniummethan-sulfonsr. Na	-	-	-
26	Phenyläthylessig-säurediäthylamino-äthylester	-	-	-
27	Phenyltoloxamin	rosarot	-	-
17	Pipazetat	hellgrün	s. s. gelb	-
18	Silomat	-	-	-
19	Sulfacetamid	-	-	erdbeerrot
28	Theophyllin	-	s. s. gelb	-
29	Tussukal	hellblau-negativ	-	-

Bemerkungen zu den Reaktionen der Substanzen

Die Detektion mit Reagenz 6 (Marquis-Reagenz) erleichtert die Unterscheidung der Substanzen innerhalb der III. Gruppe. Vor allem wird so der Effekt der Auftrennung der Substanzen Clofedanol (3) - Diphenhydramin (23) - Phenyltoloxamin (27) mit Fließmittel 2 und 5 durch unterschiedliche Anfärbungen (23, 27) bzw. negative Reaktion (3) verstärkt.

Auch mit Reagenz 3 lassen sich bei relativ geringen Unterschieden der hR_f-Werte der III. Gruppe gute Auftrennungseffekte erzielen, da dieses Reagenz praktisch nur das Zentrum des Fleckes mit der größten Substanzkonzentration erfaßt. Empfindlichere Reagenzien wie Jodplateat (4) färben dagegen den gesamten Fleck an und lassen so die Flecken von Substanzen mit nur geringen hR_f-Wert-Unterschieden als eine Substanzzone erscheinen.

Jodplateat (4) reagiert mit Narcein (25) meist negativ. Bei Verwendung von Fließmitteln, in denen Narcein nicht wandert, zeigt sich nach dem Besprühen am Startfleck eine kleine punktförmige blaue Zone.

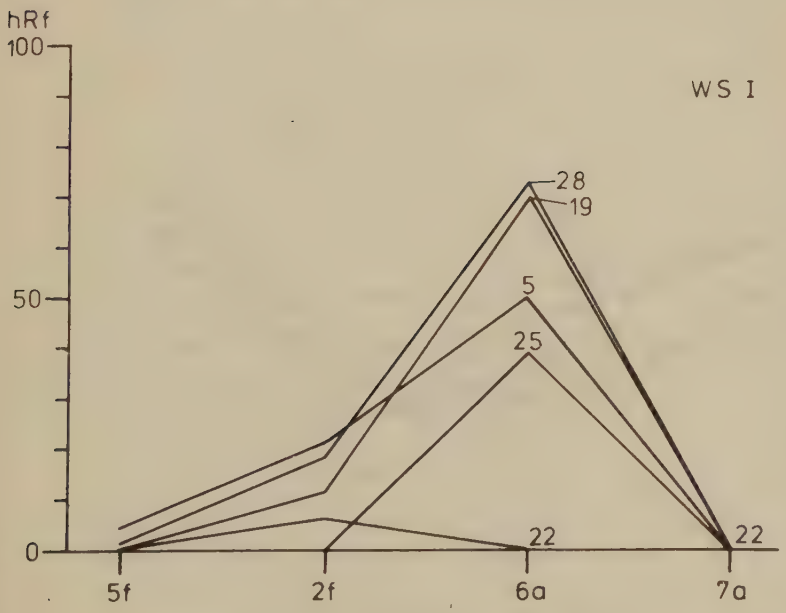
Der Nachweis von Etafedrin (11) mit Jodplateat fällt auf den in Fließmittel 6 entwickelten Platten meist negativ aus, während auf den übrigen Platten eine blau-lila Färbung zu sehen ist. In Fließmittel 7 entwickelte Platten zeigen ein schnelles Umschlagen der Farbe nach weiß.

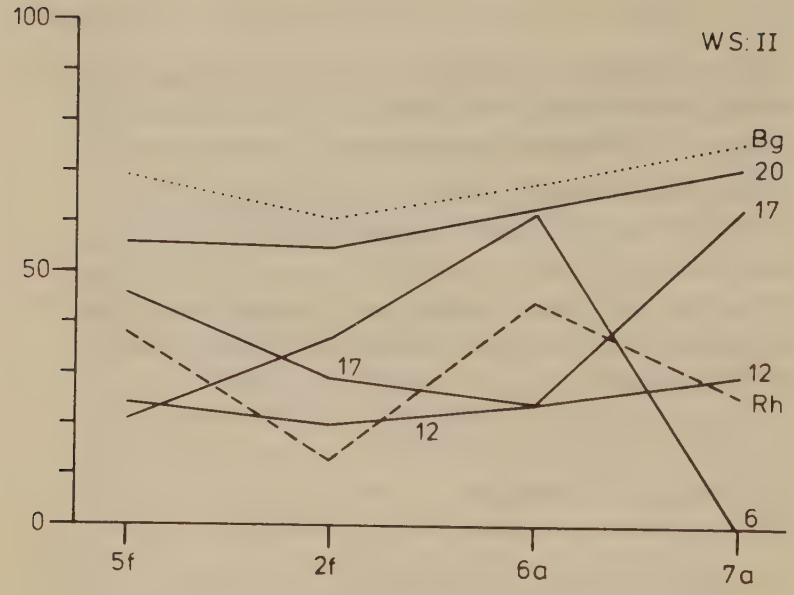
Cyclohexylsulfaminsäure (22) kommt in den zur Zeit im Handel befindlichen Präparaten nur als Isoaminilcyclamat vor. Der Nachweis der Cyclohexysulfaminsäure in der WS-Fraktion dieses Salzes ist nur möglich, wenn relativ große Mengen des Salzes auf die Platten aufgetragen werden. Reagenz 3 reagiert erst nach 20 - 30 Min., Joddampf (2) reagiert erst nach 1 - 2 Stunden. In der HCl-Fraktion kann die Substanz außerdem mit Reagenz 5 nachgewiesen werden.

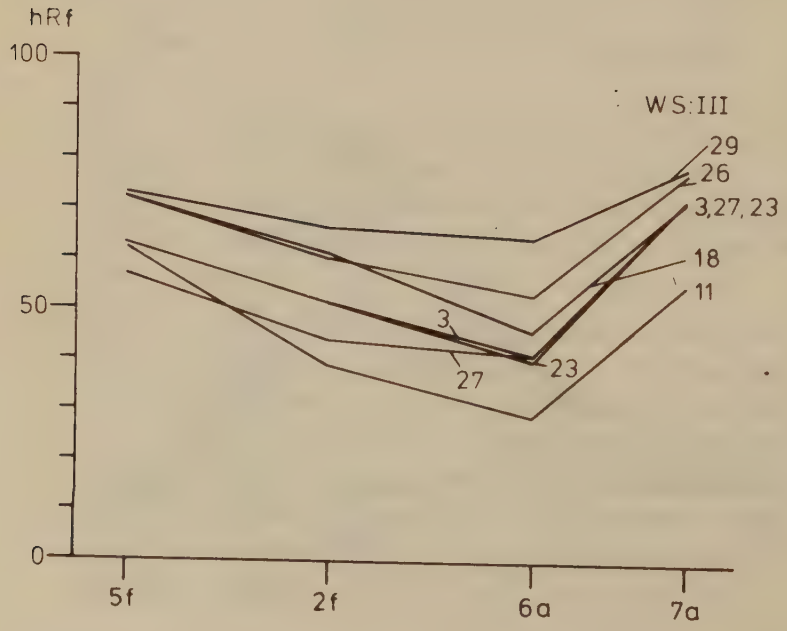
3.2.3. Profile

Für die Zeichnungen der Profile wurden der besseren Reproduzierbarkeit wegen die unter a (selbstbeschichtete Platten, Schichtdicke 0,25 mm) und f (Fertigplatte) angegebenen Werte verwendet.

Die Substanzen Kreosolsulfonsäure (13), Noramidopyriniummethansulfonat-Natrium (15) und Isoaminil (24) geben weinsaure Extrakte nicht einheitlicher Zusammensetzung, die bei der chromatographischen Auftrennung mehrere Flecke zeigen. Aus Gründen der Übersichtlichkeit wurden die Zeichnungen der Profile dieser Stoffe hier nicht wiedergegeben.




100
50
0
WS: II
Bg
20
17
17
12
Rh
12
6
5f
2f
6a
7a


hRf
100
50
0
WS: III
29
26
3,27,23
18
11
3
27
23
5f
2f
6a
7a

Die hR_f-Werte der Substanzen der I. Gruppe (polare Neutralstoffe, Säuren) ziehen sich bei Verwendung der Fließmittel 1, 5 und 7 kaum, bei Fließmittel 2 wenig auseinander. Erst bei Verwendung von Fließmittel 6 - das überwiegend verteilungschromatographische Eigenschaften zeigt - auf den alkalisch-imprägnierten Kieselgelschichten zeigen die Substanzen - außer den Säuren - eine größere Auftrennung. Gruppe III zeigt das umgekehrte Verhalten, die hR_f-Werte fallen von Fließmittel 5 zu 2 und von 2 nach 6, da hier jeweils der verteilungschromatographische Charakter zunimmt und sie steigen dann stark an bei Fließmittel 7 auf den weniger polaren Aluminiumoxidschichten. Die Substanzen der II. Gruppe nehmen eine Mittelstellung ein und folgen in ihrem Verhalten teils den Substanzen der I., teils denen der III. Gruppe.

3.3. Alkalische (NaOH-) und ammoniakalische (NH_3-) Fraktion

Die methanolischen Lösungen der NaOH- und NH_3-Fraktion werden vereint, da die Zusammensetzung der Substanzen in diesen Fraktionen ähnlich ist, und die Gruppen ohnehin relativ klein sind. Der Extrakt wird mehrmals in unterschiedlicher Konzentration auf die Platten aufgetragen.

Arbeitsmethodik und Auswertung siehe III A 2, S. 65.

Fließmittel: 8, 9 und 10

Bei Verwendung von Fließmittel 10 darf nur wenig Substanz aufgetragen werden, da sonst die Substanzzonen starke Schwanzbildung zeigen.

Detektion: 1, 3, 4, 7, 8, 9, 10 und 11

3.3.1. hR_f - Werte:

a = selbstgestrichen, Schichtdicke 0,25 mm

b = selbstgestrichen, Schichtdicke unter 0,25 mm

f = Fertigplatte

* = schwache

** = mittelstarke Schwanzbildung

*** = starke

Nr. Substanz	Fließmittel 8 a	8 b	9 b	9 f	10 b	10 f
Gruppe I, hR_f in Fließmittel 8: 0						
5 Diprophyllin	0	0	19^{+1}_{-2}	20 ± 2	67 ± 1 *	63^{+1}_{-2}
6 Dopropyzin	0	0	41^{+2}_{-1}	40 ± 0	68^{+0}_{-2} *	61^{+2}_{-1}
13 Kreosolsulfonsäure	0	0	0	10^{+0}_{-2}	72^{+2}_{-0} *	69 ± 2
16 Orciprenalin	0	0	2 ± 0	0	29 ± 1 *	41^{+3}_{-1}
			4 ± 0		61^{+2}_{-1}	61^{+2}_{-1}
54 Phenylephrin	0	0	0	0	16^{+0}_{-2}	47^{+4}_{-3} ***
					46 ± 2	
					59^{+2}_{-1}	
					72 ± 0	
19 Sulfacetamid	0	0	0	0	68^{+1}_{-2} *	63^{+2}_{-1}
Gruppe II, hR_f in Fließmittel 8: 9 - 24						
1 Äthylmorphin	9 ± 1	16^{+1}_{-0}	56^{+1}_{-2}	49^{+3}_{-1}	35 ± 2 *	32 ± 2
12 Codein	9^{+1}_{-0}	11^{+0}_{-1}	57 ± 2	45^{+3}_{-2}	33 ± 1 *	31^{+2}_{-1}
2 Dihydrocodein	9 ± 1	14^{+0}_{-1}	52^{+0}_{-3}	37 ± 1	22^{+1}_{-2} *	23 ± 1
9 Ephedrin	13 ± 1	20^{+2}_{-1}	20^{+3}_{-2}	15^{+3}_{-2}	12^{+3}_{-0}	7^{+1}_{-2}
10 Ephetonin						38 ± 2
15 Noramidopyrinium-methansulfonat-Natrium	24^{+1}_{-0}	29^{+1}_{-2}	71^{+4}_{-2}	65^{+0}_{-1}	60^{+3}_{-1} *	58 ± 1

	8 a	8 b	9 b'	9 f	10 b	10 f
Gruppe III, hR_f in Fließmittel 8: 41 - 50						
4 Dimethylphenylimino-thiazolidin	43 ± 1	49 ± 3	74 ± 2	$66 \pm^{3}_{2}$	34 ± 4 ***	$39 \pm^{1}_{2}$ ($56 \pm^{2}_{5}$)
8 Emetin	$47 \pm^{1}_{2}$	$48 \pm^{4}_{2}$	83 ± 3	$73 \pm^{2}_{3}$	$32 \pm^{1}_{2}$ *	32 ± 2 ($43 \pm^{2}_{0}$)
11 Etafedrin	$50 \pm^{1}_{0}$	$55 \pm^{2}_{1}$	$58 \pm^{2}_{3}$	48 ± 3	24 ± 1 **	$13 \pm^{2}_{3}$ $36 \pm^{3}_{1}$ ($53 \pm^{0}_{1}$)
14 Methylephedrin	$41 \pm^{2}_{1}$	$46 \pm^{0}_{1}$	$46 \pm^{3}_{2}$	34 ± 2	$20 \pm^{2}_{3}$ **	$12 \pm^{2}_{3}$ $32 \pm^{4}_{3}$
17 Pipazetat	45 ± 1	$44 \pm^{1}_{0}$	$77 \pm^{4}_{1}$	65 ± 1	$25 \pm^{4}_{0}$ *	34 ± 2
Gruppe IV, hR_f in Fließmittel 8: über 60						
3 Clofedanol	69 ± 1	70 ± 1	80 ± 1	72 ± 2	40 ± 1 **	$41 \pm^{2}_{1}$ ($55 \pm^{2}_{5}$)
7 Doxylamin	61 ± 2	$60 \pm^{1}_{0}$	$75 \pm^{3}_{4}$	64 ± 3	$20 \pm^{2}_{1}$ ***	27 ± 2
18 Silomat	$74 \pm^{2}$	74 ± 2	$85 \pm^{0}$	$75 \pm^{0}_{1}$	31 ± 2 ***	35 ± 2
Bezugssubstanzen:						
Rh Rhodamin B	$2 \pm^{0}_{1}$	$3 \pm^{0}_{2}$	$29 \pm^{3}_{4}$	21 ± 2	$53 \pm^{2}_{1}$	$54 \pm^{3}_{1}$
Bg Buttergelb	$75 \pm^{0}_{1}$	$76 \pm^{3}_{4}$	$87 \pm^{2}_{3}$	$77 \pm^{4}_{3}$	$72 \pm^{2}_{1}$	$67 \pm^{2}_{0}$

Bemerkungen zu den hR_f-Werten einiger Substanzen:

Die bei System 10 f zusätzlichen, zum Teil in Klammern gesetzte Werte entsprechen Flecken, die nur bei Verwendung von Fertigplatten auftreten und die als Zersetzungsprodukte gedeutet werden können auf Grund der größeren Aktivität der Fertigplatten (s. S. 34) und der damit verbundenen größeren Zersetzungsgefahr der entwickelten Substanzen.

Die meisten Arzneistoffe lassen sich durch mindestens ein Fließmittel trennen. Nur bei den Substanzen

Äthylmorphin (1) - Codein (12)

und

Kreosolsulfonsäure (13) - Sulfacetamid (19)

war keine Trennung möglich. Das erste Paar kann auch durch verschiedene Anfärbungen mit Reagenzien nicht getrennt werden, hier liegt die einzige Möglichkeit zur Unterscheidung in den Aussagen der Spektren (s. Band 2). Bei dem zweiten Paar treten mit einigen Reagenzien unterschiedliche Farben auf (s. S. 128), außerdem trennt Fließmittel 3 der HCl-Fraktion diese beiden Substanzen.

Die Trennung von Clofedanol (3) und Silomat (18) in Fließmittel 10 gelingt trotz des geringen Unterschiedes der hR_f-Werte, wenn sehr wenig Substanz aufgetragen wird. Die mit Sprühreagenzien auftretenden Farben sind praktisch gleich. Eine zusätzliche Identifizierung ist möglich durch die Auftrennung in einigen Fließmitteln der HCl- und WS-Fraktion.

In allen Fließmitteln wandern die Basen wie die Salze; in Fließmittel 10 zeigen die Salze allerdings stärkere Schwanzbildung.

Ältere Lösungen einiger Substanzen zeigen Zersetzungserscheinungen, die sicher auch bei länger lagernden Hustensäften und -tropfen auftreten können. Diese Zersetzung äußert sich im Auftreten zusätzlicher Flecken nach dem Entwickeln in verschiedenen Fließmitteln beim Betrachten im UV-Licht. Die Konzentration dieser Zersetzungsprodukte ist allerdings so gering, daß sie mit Sprühreagenzien nicht erfaßbar sind:

hR_f-Werte der Zersetzungsprodukte

Nr.	Substanz	8 b	9 b	10 b
7	Doxylamin	x	56	x
8	Emetin	25	55	x
15	Noramidopyrinium-methansulfonsr. Na	23	60	x
17	Pipazetat	58	x	x

x bedeutet, daß der Nebenfleck nicht erfaßbar ist, in Fließmittel 10 vor allem wegen der nicht entfernbaren Reste von Pyridin, das ja selbst Fluoreszenz löscht und so den Nachweis geringer Substanzmengen verhindert.

Entwickelte Salzlösungen von Doxylamin-Hydrochlorid (7) zeigen ebenfalls den Nebenfleck in Fließmittel 9. Die Substanz kann also entweder von vornherein verunreinigt sein oder, wahrscheinlicher, bedingt das alkalische Fließmittel die Zersetzung.

Auch Salzlösungen von Orciprenalin-Sulfat (16) zeigen in den Fließmitteln 9 und 10 zwei Flecke, die Ursache ist sicher die gleiche wie bei Doxylamin (7).

Phenylephrin (54) zeigt beim Entwickeln in Fließmittel 10 auf Fertigplatten einen Fleck mit starker Schwanzbildung, während auf selbstgestrichenen Platten mehrere etwa gleichstarke Flecke auftreten.

Eine Lösung des Natrium-Salzes der Noramidopyriniummethansulfonsäure, die als Vergleich aufgetragen und entwickelt wurde, ergab in allen Fließmitteln außer dem Hauptbestandteil, der am Startfleck blieb, schwache Nebenflecke, wie sie die alkalischen Extrakte dieser Substanz zeigen. Offensichtlich entstehen bei der Extraktion der alkalischen wässrigen Phase die gleichen Zersetzungsprodukte wie bei der Entwicklung dieser Substanz in alkalischen Fließmitteln. Tracht [70] hat sich mit den Zersetzungsprodukten dieser Substanz eingehend beschäftigt.

In der NH_3-Fraktion kann als Bestandteil ätherischer Öle auch Thymol anfallen. Die hier angegeben hR_f-Werte können nur als Richtwerte angesehen werden, sie wurden nur in ein bis zwei Versuchen ermittelt.

	8 a	9 f	10 f
Thymol	50	65	57

Der Nachweis erfolgt durch Betrachten im UV-Licht.

---

70) H.G. Tracht, Dissertation, Braunschweig 1963

3.3.2. Detektion

Hinweise zur Auswahl und Anwendung der Reagenzien:

Reagenz 3 kann bei den basischen Aluminiumoxid-Schichten der in Fließmittel 8 entwickelten Platten nicht verwendet werden, statt dessen wird Reagenz 7 benutzt. Diese alkalischen Schichten und die Reste Pyridin auf den in Fließmittel 10 entwickelten Platten verursachen ein schnelles Umschlagen der mit Jodplateat (Reagenz 4) erzielten Färbungen nach weiß-gelb, außerdem sind die Farbtöne oft braunstichig und weichen von den in den Tabellen angegebenen ab (s. S. 70). Die mit Ninhydrin (Reagenz 8) auf den in Fließmittel 8 entwickelten basischen Aluminiumoxidplatten resultierenden Farbreaktionen sind sehr schwach, meist negativ.

Gang der Detektion:

Die in Fließmittel 8 und 9 entwickelten Platten werden mit einem Föhn oder unter dem Abzug getrocknet, im UV-Licht betrachtet und dann 1 bis zwei Stunden in einem Trockenschrank bei 105 - 110 °C getrocknet bis zur Entfernung aller Fließmittelrückstände.

Die in Fließmittel 10 entwickelten Platten müssen ein bis zwei Stunden im Trockenschrank getrocknet werden, bis ein Betrachten im UV-Licht möglich ist. Die jedoch immer noch im Sorbens enthaltenen Reste Pyridin wirken selbst Fluoreszenz löschend und lassen mittel und schwach absorbierende Substanzen meist nicht erkennen.

Ein Teil der Platte mit der mehrmals aufgetragenen Probe wird nun mit einer Glasplatte bedeckt. Man besprüht dann:

die in Fließmittel 8 entwickelten Platten mit Reagenz 7. Nachdem die auftretenden Flecken notiert worden sind, wird ein zweiter Teil der Platte mit Reagenz 4 besprüht.

die in Fließmittel 9 und 10 entwickelten Platten mit Reagenz 3, die innerhalb einer Stunde auftretenden Flecke werden notiert. Dann wird ein zweiter Teil der Platte mit Reagenz 4 besprüht.

Die Reagenzien 1, 3, 4 und 7 reagieren mit vielen Substanzen, sind also kaum spezifisch. Sind solche Nachweise nötig, so werden die Reagenzien 8, 9, 10 und 11 angewendet.

Tabellen

s. = schwach

s.s. = sehr schwach

x = die Farbe des Fleckes ändert sich sofort nach Besprühen von innen nach außen von lila nach gelb-weiß.

			Detektion mit Reagenz			
Nr. Substanz	UV-Licht 250 nm	UV-Licht 350 nm	3	4	7 a	7 b
	grün fluoreszierend Flecken violett-lila	lila	violett-rot, alle Flecken gelb	schwach rosa	beige	beige
1 Äthylmorphin	stark	-	stark	lila	goldgelb	gelbbraun
3 Clofedanol	schwach	-	schwach	violett	goldgelb	gelbbraun
12 Codein	stark	-	stark	lila	goldgelb	gelbbraun
2 Dihydrocodein	mittel	-	stark	lila	goldgelb	gelbbraun
4 Dimethylphenylimino-thiazolidin	mittel-stark	-	schwach	lila, sofort Umschlag x	goldgelb	gelbbraun
5 Diprophyllin	stark	-	stark	-	goldgelb	schwach braun-negativ
6 Dopropyzin	stark	-	stark	s. s. blau-violett - negativ	goldbraun	schwach braun-negativ
7 Doxylamin	mittel	-	stark	lila	goldgelb	gelbbraun
8 Emetin	s. Text	s. Text	stark	violett	goldgelb	gelbbraun
9, 10 Ephedrin, Ephetonin	s. schwach bis negativ	-	stark	schwach weiß bis negativ	s. s. goldgelb bis negativ	s. s. hellbraun
11 Etafedrin	s. schwach negativ	-	stark	schwach violett-negativ	schwach goldgelb	schwach gelbbraun-weiß

Nr.	Substanz	UV-Licht 250 nm	UV-Licht 350 nm	Detektion mit Reagenz 3	4	7 a	7 b
13	Kreosolsulfonsr.	mittel	-	stark	-	s. schwach goldgelb	schwach beige -negativ
14	Methylephedrin	schwach-negativ	-	stark	schwach violett-negativ	schwach goldgelb	gelbbraun-weiß
15	Noramidopyriniummethansulfonat-Na	stark	-	stark	weiß	goldgelb	braun
16	Orciprenalin	in Fließm. 8, 9 alle Fleck. schwach, in 10 negativ	alle angegebenen Flecken weiß	Fleck in Fließmittel 8 u. unterer Fleck in 9 u. 10 stark, oberer Fleck in 9 u. 10 negativ	schwach weiß -negativ	goldgelb-weiß	s. schwach-gelbbraun-negativ
54	Phenylephrin	schwach-negativ	alle Flecken blauweiß, die oberen in Fließm. 10 b schwach	stark, die oberen in Fließm. 10 b negativ	-	goldgelb	schwach braun

			Detektion mit Reagenz			
Nr. Substanz	UV-Licht 250 nm	UV-Licht 350 nm	3	4	7 a	7 b
17 Pipazetat	stark	s. Text	stark	lila	goldgelb	braun
18 Silomat	schwach	-	schwach	violett	goldgelb	braun
19 Sulfacetamid	stark	-	stark	-	gelbbraun	s. schwach braun-negativ

	Detektion mit Reagenz			
Nr. Substanz	8	9	10	11
Plattengrund	überall praktisch farblos			
1 Äthylmorphin	-	s. s. gelb-orange	rosa	-
3 Clofedanol	-	-	-	-
12 Codein	-	s. s. gelb	rosa	-
2 Dihydro-codein	-	s. s. gelb-orange	rosa-violett	-
4 Dimethyl-phenyl-iminothia-zolidin	s. s. hell-grau	s. s. gelb	-	-
5 Diprophyllin	-	-	-	-
6 Dopropyzin	-	s. gelb	-	-
7 Doxylamin	s. grau	s. gelb	-	-
8 Emetin	s. gelb	s. orange	s. s. gelb	-
9, 10 Ephedrin, Ephetonin	kräftig lila-violett	-	-	-
11 Etafedrin	-	s. s. gelb	-	-
13 Kreosolsul-fonsäure	-	kräftig gold-gelb-orange	-	-
14 Methylephe-drin	-	s. s. gelb	-	-
15 Noramidopy-riniummethan-sulfonat-Na	kräftig lila-violett	s. s. gelb	s. s. gelb	-
16 Orciprenalin	s. s. hell-gelb	kräftig gelb -orange	s. s. gelb	-
54 Phenylephrin	s. s. hell-gelb	kräftig gelb -orange	s. s. gelb	-
17 Pipazetat	s. s. hell-gelb	s. orange	leuchtend gelb	s. gelber Rand
18 Silomat	-	-	-	-
19 Sulfacetamid	s. s. hell-gelb	s. s. gelb	-	erdbeer-rot

Bemerkungen zu den Reaktionen der Substanzen:

UV (1) Die angeführten Fluoreszenzlöschungen gelten für frisch auf geschüttelte Lösungen. Ältere Lösungen oder ältere entwickelte Platten zeigen bei:

Emetin eine Abnahme der Fluoreszenzlöschung bei 254 nm und eine Zunahme der bei frischen Lösungen recht schwachen Eigenfluoreszenz bei 350 nm.

Pipazetat eine Zunahme der Eigenfluoreszenz bei 350 nm, die Fluoreszenzlöschung bei 254 nm bleibt aber erhalten.

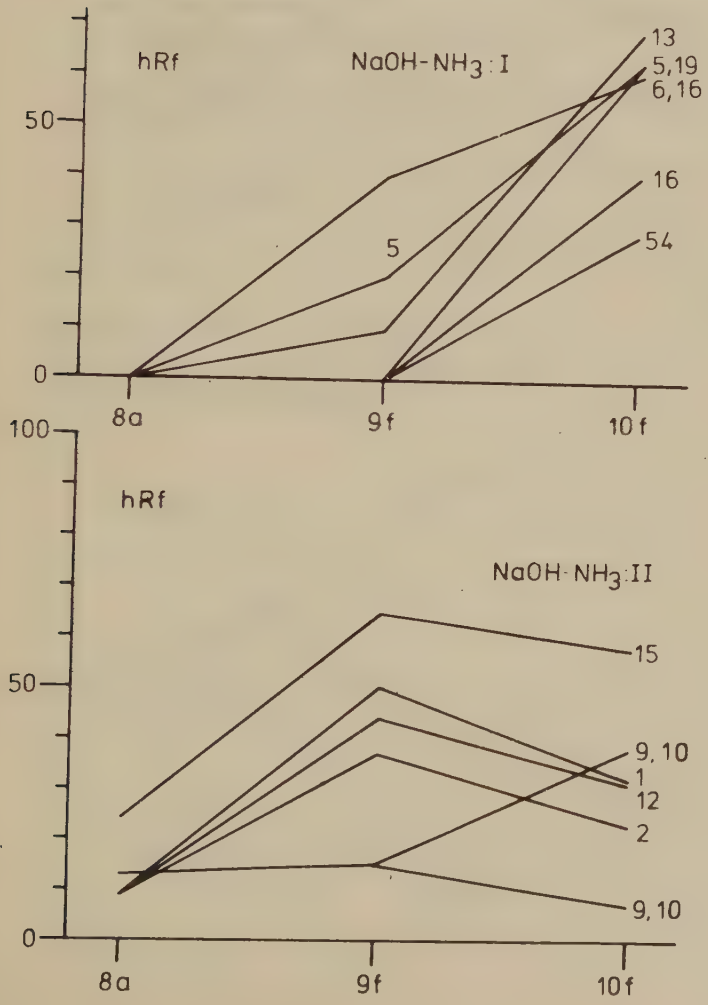
Jodplateat (4) Charakteristisch für Dimethylphenyliminothiazolidin (4) ist die sofortige Farbänderung des Fleckes nach dem Besprühen von lila nach gelb oder weiß.

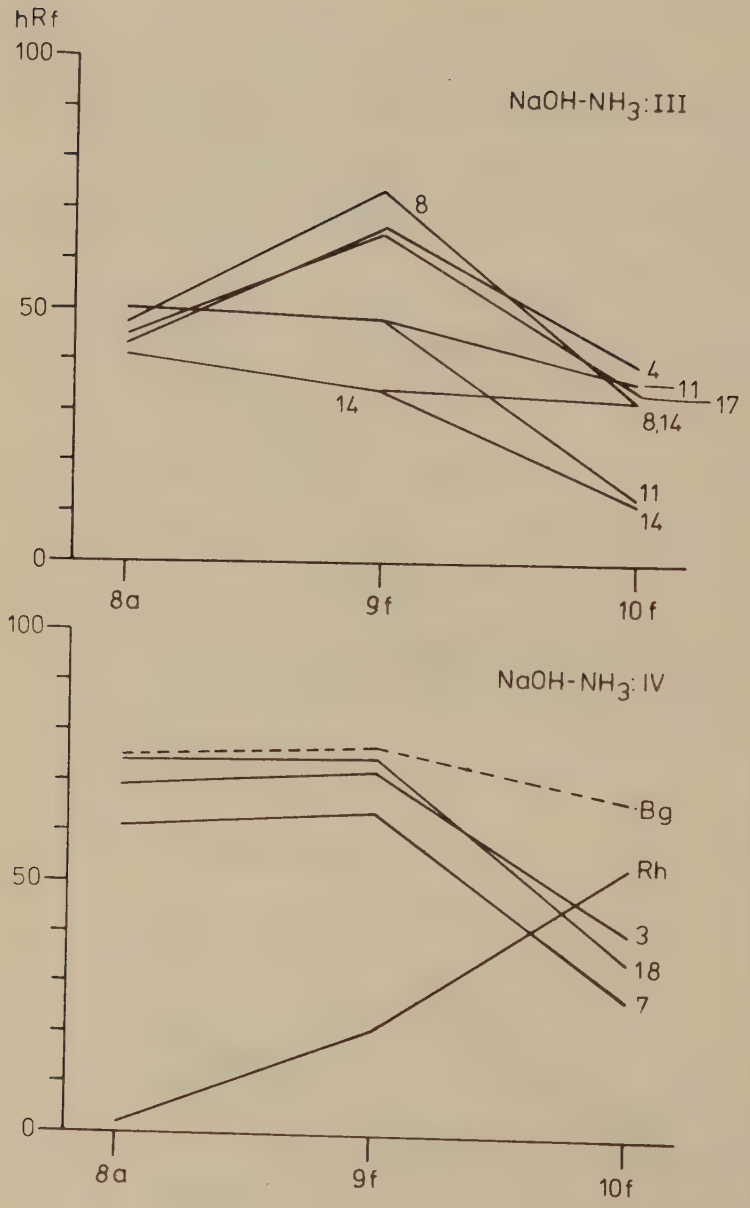
Diazotierte Sulfanilsäure (9) und Naphthyläthylendiamin (11) geben bei den Substanzen Kreosolsulfonsäure (13) bzw. Sulfacetamid (19) charakteristische Färbungen, die eine Unterscheidung der Substanzen ermöglichen. Außerdem trennt Fließmittel 3 der HCl-Fraktion dieses Paar.

Ninhydrin (8) ist ein für die Substanzen Ephedrin (9), Ephetonin (10), und den alkalischen Extrakt von Noramidopyriniummethansulfonsäure (15) spezifisches Reagenz, jedoch nicht so empfindlich wie Jod-Dampf (Reagenz 2) oder Reagenz 3.

3.3.3 Profile

Zu den Zeichnungen der Profile wurden - wegen der besseren Reproduzierbarkeit der hR_f-Werte - die unter a (selbstgestrichene Platten, Schichtdicke 0,25 mm) und f (Fertigplatte) angegebenen Werte verwendet. Bei den Substanzen Ephedrin (9), Etafedrin (11) und Methylephedrin (14) sind die hR_f-Werte beider in 10 f auftretenden Substanzzonen eingezeichnet.




hRf
100
50
0
NaOH-NH3: III
8
4
11
17
14
8,14
11
14
8a
9f
10f
100
50
0
NaOH-NH3: IV
Bg
Rh
3
18
7
8a
9f
10f

Mit Fließmittel 8 auf basischem Aluminiumoxid gelingt eine klare Aufteilung der Substanzen dieser Fraktion in vier Gruppen. Dieses Fließmittel zeigt überwiegend adsorptionschromatographische Eigenschaften. Als Gegensatz dazu wurde Fließmittel 10 ausgewählt, das praktisch eine reine Verteilungschromatographie bewirkt und damit die Umkehr der hR_f-Werte der Substanzgruppen I und IV. Die Auftrennung durch Fließmittel 10 gelingt jedoch bei gleichen hR_f-Wert-Unterschieden gegenüber den anderen Fließmitteln nicht so gut durch die stärkere Schwanzbildung der Substanzzonen.

Die hR_f-Werte der Gruppe I (polare Basen und Neutralstoffe) steigen von Fließmittel 8 zu 9 und 9 zu 10 jeweils stark an, die Werte der IV. Gruppe (relativ unpolare Basen) bleiben von Fließmittel 8 zu 9 praktisch gleich, fallen aber zu Fließmittel 10 hin stark ab. Das chromatographische Verhalten der II. und III. Gruppe nimmt wieder eine Mittelstellung ein.

Die von Paris et al. [71] beschriebene Auftrennung des Racemats von Ephedrin war - auch mit verschiedenen Variationen der Versuchsbedingungen - nicht reproduzierbar.

---

71) R. Paris, M. Sarsunova und M. Semonsky, Ann. pharmac. franc. 25, 177 (1967)

3.4. Wässriger Rückstand (WR)

Der eingeengte und gegebenenfalls neutralisierte wässrige Rückstand (pH 6-7) wird mehrmals in unterschiedlicher Konzentration auf die Platten aufgetragen.

Arbeitsmethodik und Auswertung siehe III A 2, S. 65.

Fließmittel: 11, 12 und 13

Auf Kieselgurplatten, die in Fließmittel 11 entwickelt werden, muß - vor allem, wenn zuckerhaltige Hustensäfte untersucht werden - auf einige Startflecke nur sehr wenig des wässrigen Rückstandes aufgetragen werden. Dieses Entwicklungssystem ist vor allem zur Identifizierung der Zucker gedacht, die hier aber wegen der geringeren Aktivität des Sorbens mehr zur Schwanzbildung neigen.

Detektion: 1, 2, 5, 6, 9, 13, 14, 15 und eventuell 11

3.4.1. hR_f - Werte

a = selbstgestrichen, Schichtdicke 0,25 mm
f = Fertigplatte
✖ = leichte Schwanzbildung
✖✖ = die Substanz zieht sich vom Start hoch, unter Umständen, je nach Konzentration, bis zur Fließmittelfront
✖✖✖ = untere Grenze der Substanzzone ist konzentrationsabhängig
\+ = Substanz kann mit den hier verwendeten Detektionsmitteln nicht nachgewiesen werden

In Klammern gesetzte Werte geben schwache Nebenflecke an.
Zwei durch einen Bindestrich verbundene Zahlen bedeuten, daß die Substanz eine lange Zone zwischen diesen Werten bildet. Ein dabei in Klammern gesetzter Wert sagt, daß die Substanzzone in dieser Richtung niedrigere Konzentration besitzt.

Nr.	Substanz	Fließmittel 11a	12f	13f
Gruppe I, Ephedrin- und Adrenalin-Derivate				
16	Orciprenalin	80-100	$54^{\pm 3}$	$16^{\pm 4}_{3}$
				(45^{+3}_{-2})
54	Phenylephrin	92^{+1}_{-2}	40^{+4}_{-2}	9^{+1}_{-2}
				(45^{+1}_{-2})
70	Protokylol	95^{+2*}_{-3}	65^{+6}_{-3}	42^{+3*}_{-2}
62	Suprifen	$85^{\pm 5}$	44^{+4}_{-2}	8^{+1}_{-2}
Gruppe II, Säuren				
55	Ascorbinsäure	**	9^{+1}_{-3}	52^{+3}_{-0}
			49^{+3}_{-5}	(62^{+5}_{-5})
34	Bernsteinsäure	96^{+1}_{-2}	+	0
64	Citronensäure	**	+	0
22	Cyclohexylsulfaminsäure	**	+	0
63	Weinsäure	**	+	0
Gruppe III, Zucker und Sorbit				
65	Fructose	65^{+5}_{-3} *	$11^{\pm 1}$	$50^{\pm 5}$ *
66	Glucose	50^{+5}_{-3} *	$7^{\pm 2}$	54^{+5}_{-4} *
67	Saccharose	18^{+2}_{-3}	4^{+0}_{-1}	$50^{\pm 5}$ *
68	Sorbit	(30)-53 ***	7^{+3}_{-2}	25^{+6}_{-8} *

	11a	12f	13f
Gruppe IV, Verschiedenes			
69 Cetylpyridiniumchlorid	81^{+4}_{-5} **	14^{+2}_{-2}	0
56 Cholinsalicylat s. Text	**	58 ±2	0
		74^{+3}_{-2}	62 ±3
57 Glucosulfamid-Natrium	0	0-10	0 - 50
	40^{+5}_{-10}	(12 ±4)	(57 ±3)
	(50 ±4)	39^{+4}_{-3}	(63^{+2}_{-3})
	80 ±8		75^{+0}_{-1}
	97^{+1}_{-0}		
58 ammoniakalischer Glycyrrhiza-Extrakt	0	0	(65^{+2}_{-3})
	95^{+2}_{-6}	78^{+2}_{-1}	74 ±1
13 Kreosolsulfonsäure	0	11^{+2}_{-1}	76^{+1}_{-2}
	9^{+2}_{-1}		
	(78^{+3}_{-8})	45^{+2}_{-3}	
	91^{+3}_{-1}	(76 ±4)	
15 Noramidopyriniummethansulfonsäure	(40) - 80	14^{+2}_{-1}	69^{+4}_{-3}
60 Sulfadiazin s. Text	93^{+2}_{-3}	11 ±2	68^{+2}_{-3}
		(42^{+3}_{-1})	
61 Sulfogajakol	(0) - 80	31 ±3	75^{+0}_{-1}
Bezugssubstanzen:			
Rh Rhodamin B	98 ±1	58^{+1}_{-2}	57 ±1
Bg Buttergelb	98 ±1	69 ±2	73^{+2}

Bemerkungen zu den hR_f-Werten einiger Substanzen:

Die im WR anfallenden Substanzen sind sehr unterschiedlichen chemischen Gruppen zuzuordnen, da sie aber innerhalb der Gruppen nur geringe Unterschiede in den chemischen und chromatographischen Eigenschaften aufweisen, ist die Auftrennung und Identifizierung recht schwierig. Die in dieser Fraktion verwendeten Fließmittel trennen jeweils bestimmte Gruppen sehr gut, andere wiederum kaum oder gar nicht oder deren Nachweis der Substanzen gelingt nicht:
so lassen sich die Zucker durch Fließmittel 11 trennen, während die meisten anderen Substanzen zur Front wandern oder starke Schwanzbildung zeigen. Ephedrin- und Adrenalin-Derivate lassen sich am besten in Fließmittel 12 entwickeln, die meisten Säuren sind aber mit diesem Fließmittel nicht zu erfassen (s. S. 137). Fließmittel 13 trennt mehrere Substanzgruppen - so läßt sich z. B. Sorbit von Glucose trennen -; nachteilig für eine gute Trennung ist hier jedoch die Bildung zweier Flekken bei den Substanzen Orciprenalin (16) und Phenylephrin (54). Daher wurde die Einteilung der Substanzen in Gruppen hier nicht nach zum Teil schwer zu ermittelnden und eventuell schwer reproduzierbaren hR_f-Werten vorgenommen, sondern nach ihrer chemischen Ähnlichkeit.

Die Substanzen Phenylephrin (54) und Suprifen (62) sind mit keinem Fließmittel zu trennen, sie können aber durch Farbreaktionen unterschieden werden (s. S. 144).

Ascorbinsäure (55) zeigt auf den in Fließmittel 12 entwickelten Platten zwei gleichstarke Flecken, Auch in Fließmittel 13 trennt sie in zwei Flecken auf, wobei der obere Fleck hier jedoch schwächer ist und wie ein Hof dem Hauptfleck vorgelagert ist.

Cyclohexylsulfaminsäure (22), Citronensäure (64) und Weinsäure (63) werden durch keines der Fließmittel getrennt; Cyclohexylsulf-

aminsäure kann in der HCl- und der WS-Fraktion nachgewiesen werden, die Trennung von Citronensäure und Weinsäure gelingt, unter den von Schweiger [72] beschriebenen Bedingungen, dieses Entwicklungssystem wurde hier nicht mit angeführt, da es für die übrigen Substanzen dieser Fraktion keine besonderen Trenneigenschaften zeigte.

Bei der Probe auf Weinsäure muß natürlich die Originallösung der Probe verwendet werden, da diese während der Extraktion im variierten Stas-Otto-Gang zugefügt wird.

Die hR_f-Werte der Zucker und Sorbit hängen sehr stark von den aufgetragenen Mengen ab. Die Auftrennung gelingt am besten, wenn man nur soviel Substanz aufträgt, wie gerade noch nachgewiesen werden kann. Außerdem können Aktivitätsunterschiede des Sorbens große Schwankungen der hR_f-Werte hervorrufen. So fielen die Trennungen mit Fertigfolien (Plastikfolien), die wahrscheinlich anders aktiviert wurden, und Fertigplatten sehr unterschiedlich aus (s. S. 147).

Cholinsalicylat (56) trennt sich in Fließmittel 12 und 13 in zwei Flecke auf, der schwächere Fleck entspricht jeweils dem freier Salicylsäure.

Sulfadiazin (60) zeigt auf den in Fließmittel 12 entwickelten Platten zwei Flecke, der obere schwächere Fleck entsteht wahrscheinlich durch Zersetzung.

Glucosulfamid (57) trennt sich in allen Fließmitteln in mehrere Flecke auf; mit auf Zucker ansprechenden Reagenzien (v. a. Reagenz 13) läßt sich auch Glucose nachweisen, deren Werte mitangegeben sind. Diese Zersetzungserscheinungen werden auf S. 155 ausführlich diskutiert.

---

72) A. Schweiger, Z. Lebensmittel-Unters. u. -Forsch. 124, 20 (1963)

Kreosolsulfonsäure (13) trennt sich in Fließmittel 11 und 12 in mehrere Substanzzonen auf, die den stellungsisomeren Sulfonsäuren und eventuell Verunreinigungen zuzuordnen sind.

3.4.2. Detektion

Hinweise zur Auswahl und Anwendung der Reagenzien:

Die angegebenen Reagenzien können bei allen Platten verwendet werden mit Ausnahme von Reagenz 5 auf den in Fließmittel 12 entwickelten Platten, da vor allem Fertigplatten auch nach längerem Trocknen noch so viel SO_2 absorbieren, daß die ganze Platte nach dem Sprühen mit diesem Reagenz einen gelben Farbton zeigt.

Die auf S. 135 besprochenen Schwierigkeiten bei der Auftrennung der im WR anfallenden Substanzen werden durch die Vielzahl der anzuwendenden Reagenzien und die damit auftretenden - zum Teil spezifischen - Farbreaktionen erleichtert.

Gang der Detektion:

Die in Fließmittel 11 und 13 entwickelten Platten werden mit einem Föhn oder unter dem Abzug getrocknet, im UV-Licht betrachtet und 15 - 30 Minuten im Trockenschrank bei 105 - 110 ^{o}C getrocknet.

Die in Fließmittel 11 entwickelten Platten werden 1 - 2 Stunden im Trockenschrank getrocknet bis das SO_2 größtenteils entfernt ist und dann im UV-Licht betrachtet. Auch dann können jedoch nur sehr stark Fluoreszenz-löschende Substanzen wahrgenommen werden.

Ein Teil der Platte mit der mehrmals aufgetragenen Probe wird nun mit einer Glasplatte bedeckt. Man besprüht dann:

die in Fließmittel 11 und 13 entwickelten Platten mit Reagenz 15. Nachdem die vor und nach dem Einstellen in die NH_3-Kammer auftretenden Färbungen notiert worden sind, wird ein zweiter Teil der Platte mit Reagenz 5 und ein anderer Teil eventuell mit zusätzlichen Reagenzien behandelt. Zum Schluß wird die Platte in eine Jod-Kammer gestellt.

die in Fließmittel 12 entwickelten Platten mit Reagenz 15; mit Ausnahme von Reagenz 5 (s. S. 137) wird wie oben beschrieben verfahren.

Nach der Detektion mit Jod (Reagenz 2) kann dieses durch Erhitzen der Platte im Trockenschrank weitgehend entfernt werden, es können dann noch die Reagenzien 6, 9 und 13 angewendet werden. Die Reagenzien 1, 2, 5, 14 und 15 reagieren mit vielen Substanzen, sind aber kaum spezifisch. Sind solche Nachweise nötig, so werden die Reagenzien 6, 9, 11 und 13 angewendet.

Tabellen

kr. = kräftig

s. = sehr

s. s. = sehr schwach

Nr. Substanz Plattengrund	UV-Licht 254 nm grün, Flek- ken violett	UV-Licht 350 nm lila	Detektion mit Reagenz 2 beige-hellgelb	15 nach Besprü- hen hellgelb	nach NH_3-Kam- mer weiß, hell- blau	5 hellgrün
Gruppe I						
16 Orciprenalin	alle Flecken s. s.	alle Flecken weiß	kr. braun Nebenfl. schwach	-	kr. blau Nebenfl. blau	blau Nebenfl. schwach blau
54 Phenylephrin	schwach, Ne- benfl. s. s.	alle Flecken weiß	kr. braun Nebenfl. schwach	-	kr. blau Nebenfl. blau	blau Nebenfl. schwach blau
70 Protokylol	stark	weiß	kr. braun	wenn zer- setzt blau	kr. blau	blau
62 Suprifen	s. s.	-	kr. braun	-	kr. blau	blau
Gruppe II						
55 Ascorbin- säure	stark, Ne- benfl. s. s.	weiß	braun, Ne- benfl. schwach	wenn zer- setzt blau	kr. blau Nebenfl. schwach blau	kr. gelb Nebenfl. s. s. gelb
64 Citronensäure	-	-	weiß	-	-	gelb, hochge- zogener Schwanz oft blau

Nr. Substanz Plattengrund	Detektion mit Reagenz: UV-Licht 254 nm grün, Flecken violett	UV-Licht 350 nm lila	2 beige-hellgelb	15 nach Besprühen hellgelb	nach NH_3-Kammer weiß-hellblau	5 hellgrün
22 Cyclohexysulfaminsäure	-	-	nach 1 Std. s. s. braun	-	-	gelb
63 Weinsäure	-	-	weiß	-	-	wie Citronensäure
Gruppe III						
65 Fructose	s. s.	-	s. s. braun	-	blau	schwach blau
66 Glucose	s. s.	-	s. s. braun	-	blau	schwach blau
67 Saccharose	-	-	-	-	-	s. s. blau
68 Sorbit	-	-	-	-	-	s. s. blau
Gruppe IV						
69 Cetylpyridiniumchlorid	stark	-	kr. braun	-	Startfleck s. s. gelb	Startfleck blau
56 Cholinsalicylat	alle Fl. stark	weiß	alle Fl. braun	-	Startfl. gelb, nach oben wird Fl. blau	Start blau, nach oben wird Fl. gelb

Nr.	Substanz	UV-Licht 254 nm	UV-Licht 350 nm	Detektion mit Reagenz 2	15 nach Besprühen	15 nach NH_3-Kammer	5
57	Glucosulfamid	mittel-schwach Nebenfl. s. s.	-	braun, Nebenfl. s. s.	-	alle Flecken schwach - s. s.	alle Fl. s. s. blau - negativ
58	ammoniakalischer Glycyrrhiza-Extrakt	mittel, Nebenfl. s. s.	-	schwach Nebenfl. s. s. braun	-	alle Fl. s. s. blau - negativ	-
13	Kreosolsulfonsäure	stark, Nebenfl. s. s.	-	braun, Nebenfl. s. s.	-	kr. blau Nebenfl. s. s. blau	-
15	Noramidopyriniummethansulfonat-Na	stark	-	kr. braun	graublau	kr. blau	s. s. gelb
60	Sulfadiazin	s. stark	-	braun	-	blau	-
61	Sulfogajakol	schwach	-	braun	-	kr. blau	-

Nr. Substanz	Detektion mit Reagenz 6	9	13	14
Plattengrund	farblos	farblos	s. s. rosa-orange	grau-violett
Gruppe I				
16 Orciprenalin	rosarot	kr. dottergelb	s. s. gelb-beige	rosarot
54 Phenylephrin	rosa-violett	kr. dottergelb	weiß	rosarot
	Nebenflecke bei beiden Substanzen jeweils schwächer-negativ			
70 Protokylol	graubraun	rosa-orange	schwach grau	rosarot
62 Suprifen	gelb	gelb	-	rosarot
Gruppe II				
55 Ascorbinsäure	-	-	s. s. grau, Nebenfl. negativ	beige-rosa- Nebenfl. s. s. negativ
64 Citronensäure	-	-	-	rosarot
22 Cyclohexylsulfaminsäure	-	-	-	-
63 Weinsäure	-	-	-	rosarot
Gruppe III				
65 Fructose	s. s. graubraun	s. s. braun	violett	rosarot
66 Glucose	s. s. graubraun	s. s. braun	violett	rosarot

Nr. Substanz	Detektion mit Reagenz 6	9	13	14
67 Saccharose	s. s. graubraun	-	violett	rosarot
68 Sorbit	-	-	-	rosarot
Gruppe IV				
69 Cetylpyridiniumchlorid	-	-	-	-
56 Cholinsalicylat	rosa-orange	s. s. gelb	-	schwach rosarot
57 Glucosulfamid	-	s. s. gelb, Nebenfl. meist negativ	Hauptfl. graugrün, Nebenfl. s. s. rosa-orange	rosarot, Nebenfl. schwach-negativ
58 ammoniakalischer Glycyrrhiza-Extrakt	alle Flecken s. s. rosa - s. s. braun Nebenfl. meist negativ	s. s. gelb -negativ	alle Flecken s. s. rosa, Nebenfl. meist negativ	s. s. rosarot, Nebenfl. meist negativ
13 Kreosolsulfonsäure	Hauptflecke rosa -violett, Nebenfl. meist negativ	kr. dottergelb Nebenfl. s. s. gelb	-	rosarot, Nebenfl. schwach-negativ
15 Noramidopyriniummethansulfonat-Na	s. s. gelb	kr. dottergelb	s. s. gelb-beige	rosarot
60 Sulfadiazin	-	-	-	rosarot, Nebenfl. negativ
61 Sulfogajakol	blaugrau	kr. gelb-orange	-	rosarot

Bemerkungen zu den Reaktionen einiger Substanzen:

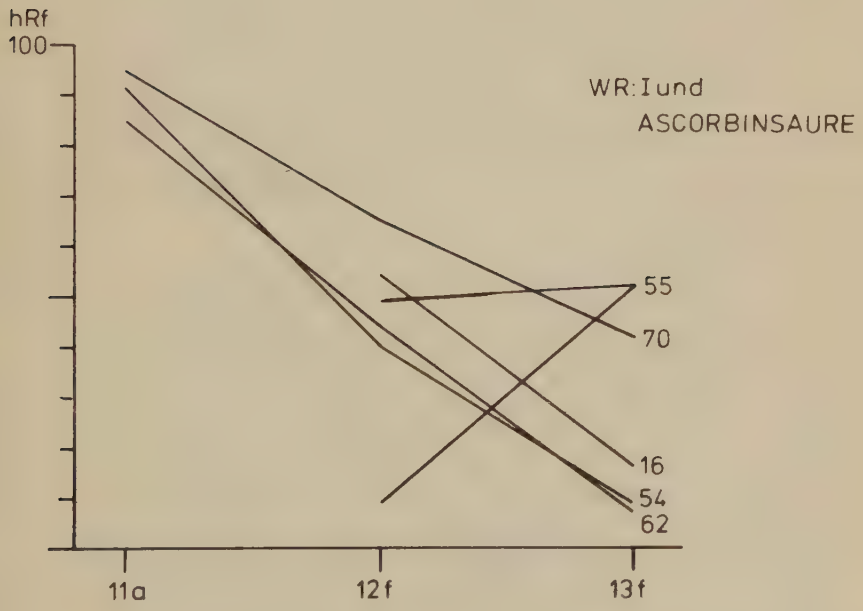
Die verschiedenen Substanzzonen von Glucosulfamid (57) können am empfindlichsten mit Reagenz 11 (Naphthyläthylendiamin) nachgewiesen werden. Dieser Nachweis ist auf S. 155 ausführlich beschrieben. Jedoch reagiert auch Sulfadiazin (60) zu einem Kupplungsfarbstoff.

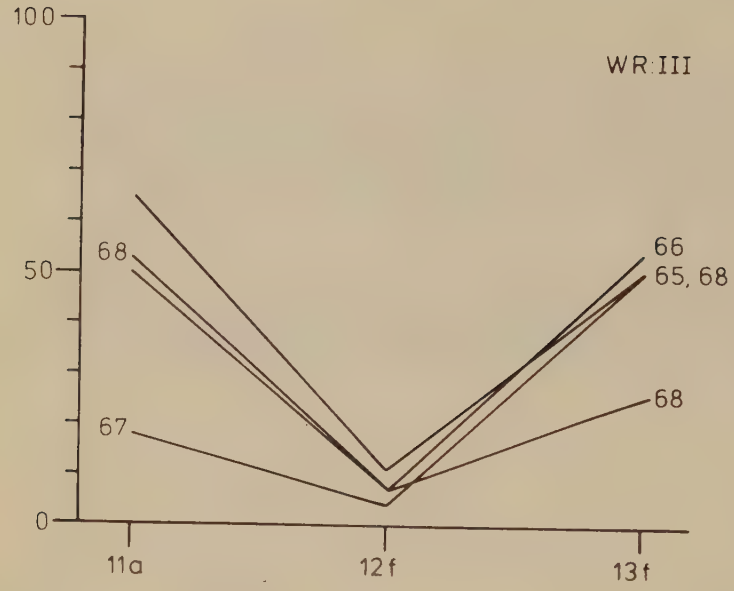
Die durch Fließmittel nicht aufzutrennenden Substanzen Phenylephrin (54) und Suprifen (62) können durch ihre unterschiedlichen Reaktionen mit Marquis-Reagenz (6) identifiziert werden.

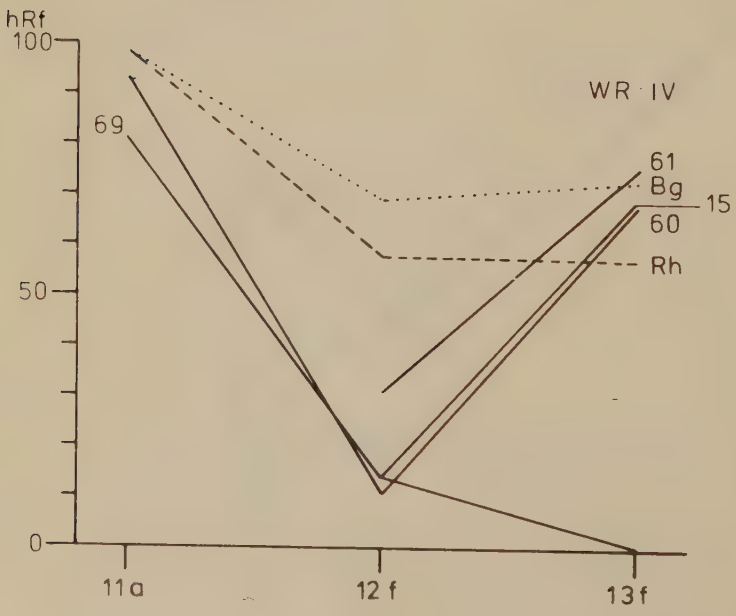
3.4.3. Profile

Werte von Substanzen, die bei Verwendung von Fließmittel 11 zu starker Schwanzbildung neigen und Werte von Stoffen, deren Zusammensetzung nicht einheitlich ist (Cholinsalicylat (56), Glucosulfamid (57), ammoniakalischer Glycyrrhiza-Extrakt (58) und Kreosolsulfonsäure (13)) sind hier nicht wiedergegeben.

Mit Ausnahme von Ascorbinsäure (55) ergeben die hR_f-Werte der Säuren keine charakteristischen Profile, sie wurden deshalb nicht eingezeichnet.




100
50
0
WR III
68
67
66
65, 68
68
11a
12f
13f

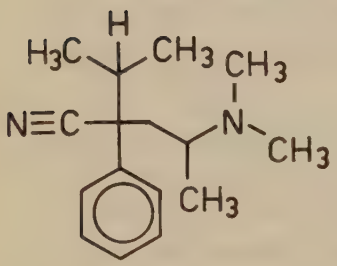

hRf
100
50
0
WR IV
69
61
Bg
15
60
Rh
11a
12 f
13f

Das chromatographische Verhalten - und die damit verbundenen Schwierigkeiten bei der Auftrennung - der einzelnen Gruppen dieser Fraktion und die Trenneigenschaften der Fließmittel wurden auf S. 135 schon kurz beschrieben. Das Nichtauffinden von Substanzen beim Arbeiten mit Fließmittel 12 und die Mehrfleckenbildung einiger Substanzen bewirken auch, daß die Darstellung der Ergebnisse in Form der Profile nicht in dem Maße charakteristisch und demnach sinnvoll ist, wie bei den übrigen Fraktionen.

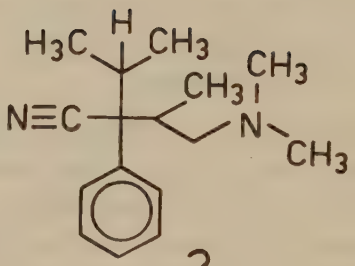
Die Reproduzierbarkeit der hR_f-Werte der Zucker auf in Fließmittel 13 entwickelten Fertigplatten hängt stark von der Aktivierung der Platten oder Folien ab. Bei Verwendung von Kieselgel-Plastikfolien (Merck) wurden hR_f-Werte gefunden, die höher lagen als die mit Glasplatten ermittelten, die hier angegeben sind. Bei Verwendung selbstgestrichener Platten, die bei 105 - 110 ^{o}C 30 Minuten aktiviert wurden, lagen die erhaltenen Werte noch höher. Bei einigen Glasplatten (Merck) früherer Lieferungen zeigten die Zucker bei Verwendung dieses Fließmittels keine definierte Fleckenform, sondern die Substanz zog sich als langer Fleck vom Start hoch.

4. Spezielle Probleme

4.1. Isoaminilcyclamat



1



2

Die vom Hersteller dieser Substanz (Kali-Chemie AG) angegebene Strukturformel (Formel 1) enthält zwei asymmetrische C-Atome. Falls ein Isomerengemisch vorliegen würde, wären 4 optisch aktive Formen zu erwarten, von denen sich jeweils zwei zueinander wie Enantiomere verhalten. Diese beiden enantiomeren Paare verhalten sich wie Diastereomere zueinander: bei der Dünnschichtchromatographie wäre eine Auftrennung in zwei Substanzzonen möglich.

Die überwiegende Zahl der für diese Arbeit untersuchten Fließmittel zeigte auch eine Auftrennung der Isoaminil-Base (über einen Ionenaustauscher dargestellt, S. Band 2 S. 90) in zwei Flecke (unter anderem Fließmittel 1, 2, 4, 5, 7) während andere Fließmittel (unter anderem Fließmittel 6) überraschenderweise eine Auftrennung in drei Substanzzonen ergaben, die sich alle in der gleichen Weise und etwa gleich intensiv anfärbten.

Besonders gute Auftrennungen gaben folgende Fließmittel:

a. Methanol-Chloroform (20:80)

b. Äthanol absolut-Chloroform-Diäthylamin (20:80:3 Tropfen)

Sie ergaben unter Verwendung selbstgestrichener Platten (Schichtdicke 0,25 mm) folgende hR_f-Werte:

a.	50	67	91	Richtwerte
b.	34	55	67	

Ich führte nun Versuche durch, in denen ich die Base in Fließmitteln, die eine Auftrennung in zwei Substanzzonen ergaben, auftrennte und nach Trocknen der Platten diese quer mit den oben angegebenen Fließmitteln erneut entwickelte. Dabei trennte sich jeweils der obere Fleck in zwei Substanzzonen auf (es wurde nur mit relativ unpolaren Fließmitteln gearbeitet).

Diese Ergebnisse wurden der Hersteller-Firma mitgeteilt, die daraufhin angab, daß bei der Synthese von Isoaminil ein stellungsisomeres Produkt (s. S. 148 , Formel 2) mitanfällt, die Zusammensetzung des Isomerengemisches soll jedoch konstant sein.

Das stellungsisomere Produkt enthält ebenfalls zwei asymmetrische C-Atome [x)]. Während diese bei der Struktur die für Isoaminil angegeben ist, durch ein C -Atom voneinander getrennt sind, sind sie beim stellungsisomeren Produkt jedoch benachbart. Untersuchungen über die Struktur-Wirkungsbeziehungen solcher basischer trisubstituierter Acetonitrile [73)] zeigten, daß sich beim Vorliegen zweier asymmetrischer C-Atome, die durch ein weiteres C-Atom getrennt sind, eine antitussive Wirkung ergibt neben keiner oder nur geringer analgetischer

x) Es wären also vier diastereomere Paare des Basengemischs möglich, die auch dünnschichtchromatographisch aufgetrennt werden sollten, entsprechende Versuche führten aber zu keinem Ergebnis. Die Auftrennung führte nur zu drei Flecken.

73) Kali-Chemie AG, Brit. Pat. 765, 510 (1957) referiert in 16) S. 136

Wirkung, während sich beim Vorliegen benachbarter asymmetrischer C-Atome eine analgetische Wirkung als Hauptkomponente ergibt neben keiner oder nur geringer antitussiver Wirkung. Die Strukturmerkmale des bei der Herstellung von Isoaminil anfallenden Nebenprodukts entsprächen demnach einem analgetischen Wirkungsprinzip, das jedoch bei den pharmakologischen Tests [74) 75)] nicht beobachtet wurde: die antitussive Wirkung kommt der des Codeins gleich, die analgetische Wirkung ist jedoch sehr gering und mit der des Codeins nicht vergleichbar; es erfolgt auch keine Einwirkung auf das Atemzentrum (Atemdepression).

Um den Widerspruch zwischen den Angaben des Herstellers dieses Präparates bezüglich Struktur und Wirkung (verbunden mit den halbquantitativen Aussagen der Dünnschichtchromatographie) und den Aussagen der Pharmakologischen Untersuchungen zu klären, wäre es nötig, die Isomeren zu isolieren und deren quantitatives Verhältnis zu bestimmen. Dies kann mit den vorliegenden basischen Acetonitrilen geschehen, oder mit deren eventuell besser aufzutrennenden Derivaten.

Die Übertragung der dünnschichtchromatographischen Ergebnisse auf das Arbeiten mit dicken Schichten zur präparativen Isolierung der Isomeren gelang nicht, die Substanzzonen zeigten starke Überlagerung. Ich versuchte nun, durch Verseifen der Nitril-Gruppe ein definiertes Abbauprodukt zu erhalten und dessen Zuordnung zu einer der stellungsisomeren Formen vorzunehmen. Die alkalische Verseifung führte zur Zersetzung der Substanz, eine schwefelsaure Verseifung (48 Stunden bei Zimmertemperatur mit konz. Schwefelsäure stehen lassen) und die Verseifung mit Benzolsulfochlorid [76)] bewirkten keine Veränderung. Folgende Vorschrift führte dann zu einer teilweisen Verseifung:

---

74) W. Stühmer und S. Funke, Arzneimittel-Fosch. 8, 553 (1958)

75) W. Stühmer und S. Funke, ibid. 10, 663 (1960)

76) C. R. Stephen, E. J. Bianco und F. J. Pilgrim, J. Amer. Chem. Soc. 77, 1701 (1955)

660 mg Base werden mit 5 ml Eisessig, 5 ml Wasser und 5 ml konz. Schwefelsäure 46 Std. am Rückfluß gekocht. Die Lösung wird mit Natriumacetat auf pH 8 gebracht und mehrmals mit Methylenchlorid ausgeschüttelt. Aus dem Methylenchlorid-Extrakt fällt nach mehreren Tagen (im Kühlschrank aufbewahrt) ein weißer Niederschlag aus, der abfiltriert und mit Methylenchlorid gewaschen wird.

Eine Lösung der Substanz in Methanol und die Mutterlauge wurden in Fließmittel b chromatographiert: der mittlere Fleck des Basengemisches (hR_f-Wert 55) war bei der Mutterlauge ganz verschwunden, zusätzlich traten drei neue Flecken auf.

Fließmittel b:	hR_f-Werte		(Richtwerte)			
Mutterlauge [x]	3	9	17	34	-	67
Substanz	3					

Die ausgefallene Substanz war chromatographisch rein. Sie zeigte folgende analytische Daten:

Fp: 209 - 210 °C

IR: Die Nitrilbande des Isomerengemisches bei 2220 cm^{-1} ist verschwunden, dafür treten eine breite Bande bei 2600 - 2100 cm^{-1} und eine starke Bande bei 1610 cm^{-1} auf, der sich die schwächere, auch beim Nitril vorhandene Bande des Aromaten überlagert.

Das Massenspektrum zeigt einen Molekülpeak bei m/e 263, der weitere Abbau ist wegen der starken Verzweigung der aliphatischen Kette sehr kompliziert.

---

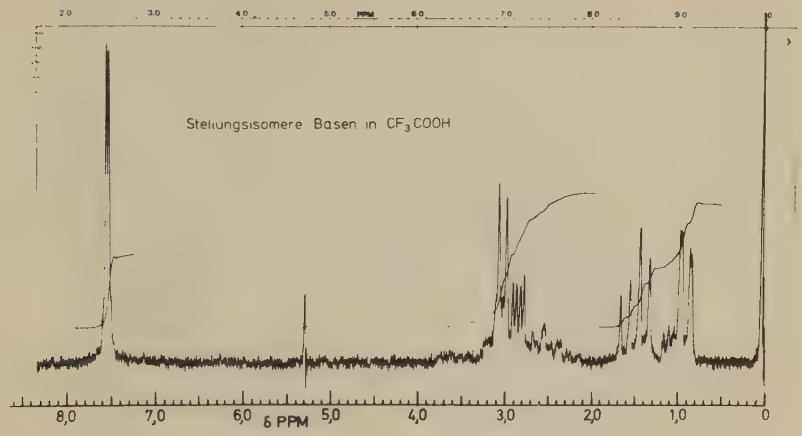
x) Die Chromatographie der Mutterlauge mit Dickschichtplatten würde sicher eine Isolierung der obersten Substanzzone (hR_f : 67)ermöglichen.

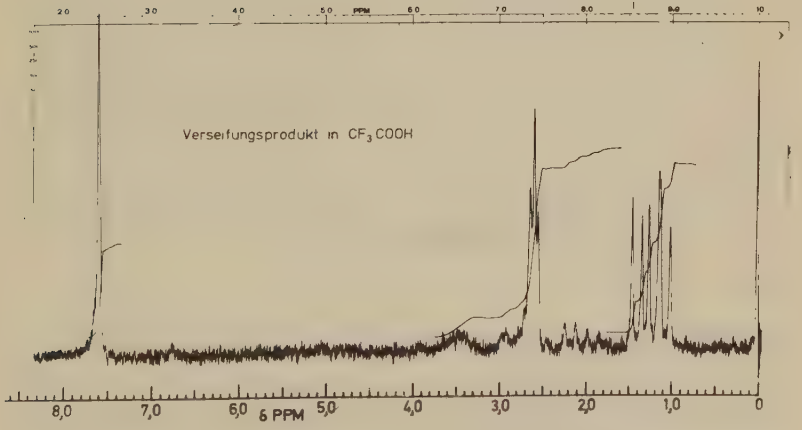
Die Hydrolyse des Nitrils kann zum Säureamid (1), der Carbonsäure (2) oder dem decarboxylierten Produkt (3) führen:

		berechnet			
Summenformel	MG	% C	% H	% O	% N
1 $C_{16}H_{26}N_2O$	262,4	73,24	9,99	6,08	10,67
2 $C_{16}H_{25}NO_2$	263,4	72,96	9,56	12,15	5,32
3 $C_{15}H_{25}N$	219,4	82,13	11,49	-	6,38
gefunden	263	72,58	9,42	12,27	5,73

Die Resultate des Massenspektrums und der Elementaranalyse sprechen für das Entstehen der Carbonsäure, dem widersprechen jedoch scheinbar die Aussagen des IR-Spektrums. Die Absorption der OH-Valenzschwingung und vor allem die der C-O-Valenzschwingung der Carboxylgruppe liegen bei wesentlich höheren Frequenzen als die hier gefundenen Absorptionen. Da das gefundene Produkt eine γ -Aminosäure darstellt, ist das Vorliegen einer Betainstruktur möglich. So erklärt sich die breite Bande im Bereich von 2600 - 2100 cm^{-1} als Absorption der N^+-H-Valenzschwingung und die Bande bei 1610 als Absorption des Carboxylations.

Die Substanz löste sich nicht in Chloroform - auch dies spricht für die Betainstruktur - das NMR-Spektrum, auch des Basengemisches als Vergleich, wurde deshalb in CF_3COOH aufgenommen:


Stellungsisomere Basen in CF_3COOH
8,0
7,0
6,0
δ PPM
5,0
4,0
3,0
2,0
1,0
0


Verseifungsprodukt in CF_3COOH
8,0
7,0
6,0
δ PPM
5,0
4,0
3,0
2,0
1,0
0

Im Vergleich zum recht komplizierten Spektrum des Basengemisches erkennt man beim Spektrum des "Betains" im Bereich von 1,0 - 1,5 ppm drei Dubletts, wobei sich zwei Signale überlagern (J = 6,5 cps), die den 9 Protonen der C-Methylgruppen zuzuordnen sind. Die Protonen der Isopropylgruppe sind nicht äquivalent, da diese Gruppe einem Asymmetriezentrum benachbart sind. Im Bereich von 1,7 - 2,5 ppm liegen die aus dem selben Grund stark aufgespaltenen Signale des Methinprotons der Isopropylgruppe. Das Integral der Signalgruppe bei 2,5 - 2,9 ppm entspricht 8 Protonen und das des stark aufgespaltenen Signals bei 3,45 ppm einem Proton. Dies Verhältnis der Intensitäten läßt sich am besten unter Zugrundelegung der Struktur (Formel 1) die für Isoaminil vom Hersteller angegeben ist erklären: die 8 Protonen entsprechende Signalgruppe kann den 6 Protonen der N-Methylgruppen und den zwei Protonen an C_{α} der n-Propylgruppe zugeordnet werden, während das stark aufgespaltene Signal bei 3,45 dem vielfach koppelnden N-Methinproton entsprechen kann, das durch die Protonierung des Stickstoffs besonders stark entschirmt wird. Läge jedoch die Struktur des Nebenbestandteils des Basengemisches vor (Formel 2), so müßten dem Integral dieses Signals 2 Protonen entsprechen und dem der Signalgruppe um 2,7 7 Protonen. Das Proton am quartären Stickstoff gibt in CF_3COOH wegen des Austauschs mit den Protonen des Lösungsmittels kein Signal.

Weitere Versuche würden über den Rahmen dieser Arbeit hinausgehen und wurden deshalb nicht durchgeführt.

Geräte:

Fp: siehe Band 2, S. 2 C
NMR und IR siehe Band 2, S.
Massenspektrum: VARIAN MAT CH 7, Ionenquelle TO 4, Ionisationsspannung 70 eV.

4. 2. Glucosulfamid

Die Strukturformel dieser Substanz läßt vermuten, daß die Verbindung relativ leicht zersetzlich ist. Die chromatographische Untersuchung ergab dann auch, daß die vom Hersteller (Sagitta) zur Verfügung gestellte wässrige Lösung der Substanz im Chromatogramm 4 - 5 Substanzflecke zeigte. Mit UV-Licht lassen sich nach dem Entwickeln in Fließmittel 11 und 13 5 bzw. 4 Flecken erfassen. Die hR_f-Werte von 50 (Fließmittel 11) und 0 - 50 (Fließmittel 13) entsprechen Glucose, die mit Reagenz 13 gut zu erfassen ist, die übrigen Substanzzonen geben jedoch auch mehr oder weniger starke Reaktionen. Das für Sulfonamide spezifische Reagenz 11 reagiert mit den übrigen Substanzflecken je nach Konzentration, entsprechend der Stärke der Fluoreszenzlöschung im UV-Licht.

Das als Endprodukt der Zersetzung entstehende Sulfanilamid wurde als Vergleich mitchromatographiert, sein hR_f-Wert von 97 (Fließmittel 11) bzw. 75 (Fließmittel 13) entspricht den relativ starken Substanzzonen der Glucosulfamidlösung, das bedeutet also, daß die von der Firma zur Verfügung gestellte Substanzlösung bereits weitgehend zersetzt ist. Eine einstündige Hydrolyse dieser Lösung (1:1 versetzt mit 10 proz. Salzsäure) führte zur vollständigen Zersetzung: chromatographisch ließ sich nur noch Sulfanilamid nachweisen.

Die Auftrennung in Fließmittel 13 gelang nur bei Verwendung von Fertigplatten, bei Fertigfolien und vor allem bei selbstgestrichenen Platten liefen die Substanzzonen stärker ineinander.

4. 3. Extraktion von Hydrochloriden aus salzsaurer Phase

Anlaß zur Vermutung, daß eine Extraktion von Hydrochloriden aus salzsaurer Phase möglich ist, waren die zu hohen Werte bei der gravimetrischen Bestimmung der Verteilung von Dextromethorphan und Normethadon in den Fraktionen des variierten Stas-Otto-Ganges. (S. 20). Die Be-

stätigung dieser Vermutung erbrachte das Ergebnis der wasserfreien Titration mit Perchlorsäure, die erst nach Zusatz von Quecksilberacetat zur Bindung des Chloridions einwandfrei verlief.

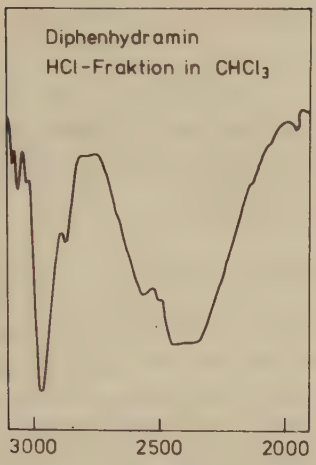
Die Extrakte der salzsauren Fraktion dieser beiden Substanzen wurden nun spektroskopisch untersucht. Die IR-Spektren zeigen eine breite Bande von 2200 - 2700 cm^{-1}, die für quartäre Ammoniumsalze typisch ist.

Die NMR-Spektren zeigen jeweils ein bei sehr tiefem Feld liegendes Signal eines Protons, das mit D_2O austauschbar ist. In der Literatur ist die Extraktion von Dextramethorphan mit Chloroform in Form verschiedener Salze aus wässriger Lösung beschrieben, das jeweilige Ionenpaar der Substanz bildet bei der Extraktion Komplexe mit Chloroform [77].

Nun wurden die salzsauren Extrakte verschiedener Verbindungen IR-spektroskopisch untersucht, folgende Verbindungen zeigen eine mehr oder weniger starke Bande im Bereich von 2200 - 2700 cm^{-1}:

Alimemazin	Doxylamin	Phenyltolpxamin
Bisolvon	Isoaminil	Pipazetat
Clofedanol	Oxeladin	Silomat
Diphenhydramin	Papaverin	Tussukal
	Phenyläthyl-essigsäurediäthylaminoäthylester	

77) T. Higuchi, A. Michaelis, T. Tan und A. Hurwitz, Analytic. Chem. 39, 974 (1967)



Bei den Substanzen Doxylamin, Isoaminil und Tussukal wird jeweils die von vornherein im Salz vorliegende Säure (Bernsteinsäure, Cyclohexylsulfaminsäure, Salicylsäure) mitextrahiert, ob dabei ein echter Komplex mit Lösungsmittelmolekülen entsteht, wurde nicht nachgewiesen.

Von den in Frage kommenden Substanzen wurden nicht alle HCl-Extrakte NMR-spektroskopisch untersucht, bestätigt wurde jedoch der mindestens teilweise Übergang als Hydrochlorid bei den Substanzen: (s. Band 2)

Diphenhydramin
Papaverin
Phenyltoloxamin

Bei einigen Substanzen wurde nun eine wasserfreie Titration mit Perchlorsäure in Eisessig durchgeführt und der Umschlag vor (a) und nach Zusatz von Quecksilberacetat (b) festgestellt. Ganz eindeutig ist das Ergebnis bei Diphenhydramin, der Verbrauch bis b beträgt das Zehnfache des bis zum Umschlag a. Dieses Resultat spricht eindeutig für eine praktisch vollständige Extraktion dieser Substanz als Hydrochlorid aus der salzsauren wässrigen Phase. Nicht so eindeutig sind die Ergebnisse der Substanzen

Alimemazin

Papaverin

Pipazetat

Hier lag der Verbrauch bis b um 50 - 70 % höher als bis zum Umschlag a, das spricht zumindest für eine teilweise Extraktion als Hydrochlorid.

5. Hinweise zur quantitativen Bestimmung von Substanzen

Die quantitative Bestimmung von Substanzen kann nach den unter II A 1. 2. S.18f.beschriebenen Methoden erfolgen. Einfach, aber nicht spezifisch sind die gravimetrische Bestimmung, oder die Titration von Säuren in wässriger Lösung, sowie die wasserfreie Titration von Basen oder ihren Salzen mit Perchlorsäure in Eisessig. Dagegen sind die photometrischen Methoden innerhalb bestimmter Grenzen spezifisch und außerdem sehr viel genauer, vorausgesetzt, die Substanzen absorbieren im meßbaren Bereich. Die Eichgeraden einer größeren Zahl von Stoffen sind in Band 2 S. 123 wiedergegeben.

B Extraktion und Identifizierung der ätherischen Öle

Eine Aufstellung der in den handelsüblichen Hustensäften und -tropfen verarbeiteten pflanzlichen Zubereitungen ergab, daß jeweils noch verschiedene Zubereitungsformen von Extrakten von mehr als 110 Pflanzen verwendet werden. Diese Untersuchung beschränkt sich deshalb auf die vier am häufigsten verwendeten ätherischen Öle:

Ol. Anisi vulgaris
Ol. Anisi stellati
Ol. Eucalypti globuli
Ol. Menthae piperitae

Diese Öle sind in Hustensäften in Mengen von 1 - 10 mg in 10 ml Probe enthalten. Die Identifizierung kann gaschromatographisch oder mit Hilfe der IR-Spektroskopie erfolgen. Die Hauptinhaltsstoffe können eventuell auch dünnschichtchromatographisch identifiziert werden, ihre hR_f-Werte (Richtwerte) sind bei den HCl-, WS- und NaOH-NH_3-Fraktionen angegeben (s. 83, 106 u. 121).

1. Aufbereitung der Probe

Reagenzien:

Ionenaustauscher III (Merck, stark basischer Anionenaustauscher)

Ionenaustauscher I (Merck, stark saurer Kationenaustauscher)

50 Proz. v/v Alkohol

Pentan

getrocknetes Natriumsulfat

Ionenaustausch:

Je 10 g Ionenaustauscher III und I (Merck) werden mit ausgekochtem dem. Wasser versetzt. Nach zweistündigem Stehen wird diese Mischung in eine Säule überführt. Das Wasser wird soweit abgelassen, daß die oberste Schicht des Austauschers eben noch bedeckt ist. Nun gibt man

30 ml des Saftes [x] oder 5 ml der Tropfen (mit Athanol auf 30 ml ergänzt) auf die Säule. Es wird nun mit einer Geschwindigkeit von 50 - 60 Tropfen pro Minute eluiert bis eben noch die oberste Schicht des Austausches bedeckt ist. Der Ionenaustauscher wird in der gleichen Weise zweimal mit je 10 ml Äthanol nachgewaschen. Zum Schluß läßt man die gesamte Flüssigkeit ablaufen.

Perforation:

Das so erhaltene Eluat bringt man in den Aufsatz einer Quickfit-Apparatur mit Scheibenperforator (zur Perforation von 100 ml Probe mit spezifisch leichteren Lösungsmitteln)unter Verwendung eines 250 ml Rundkolbens und spült mit einigen Anteilen von 150 ml Pentan nach. Nach Zusatz des Restes Pentan führt man den Scheibeneinsatz ein, setzt den Kühler auf und heizt mit einem Heizpilz auf. Das Pentan soll nur schwach sieden. Nach zwei Stunden wird die Perforation unterbrochen, das Pentan über Natriumsulfat filtriert und am Rotationsverdampfer mit schwachem Vakuum (100 Torr) unter Verwendung eines Wasserbades von Zimmertemperatur abgezogen. Soll die Probe gaschromatographisch untersucht werden, engt man nur bis auf 1 ml ein, soll sie IR-spektroskopisch untersucht werden, wird bis zur Trockne eingedampft. [xx]

Wird die Probe nicht sofort weiter verarbeitet, so muß sie gut verschlossen im Kühlschrank aufbewahrt werden. Es besteht sonst die Gefahr, daß leichtflüchtige Anteile des Öls verdampfen und außerdem durch Wärme

---

x) Diese Menge gilt für eine Konzentration von 20 - 30 mg Öl in 30 ml Saft. Bei geringeren Konzentrationen muß entsprechend mehr Probe eingesetzt werden.

xx) Es ist nicht sinnvoll, die Probe zu teilen, da ohnehin nur jeweils 3 bis 30 mg Öl in 30 ml Saft enthalten sind. Werden beim Ionenaustausch und der Perforation größere Mengen an Hustensaft bzw. -tropfen eingesetzt, so muß auch die Menge des Ionenaustauschers erhöht werden und eventuell eine größere Perforationsapparatur benutzt werden.

und Licht rasche Zersetzung eintritt. Die so entstehenden sehr reaktionsfähigen Substanzen (Hydroperoxyde) greifen bei der gaschromatographischen Untersuchung die flüssige Phase der Säule an: es resultieren zahlreiche Peaks mit relativ großen Retentionszeiten, die nicht aus dem ursprünglichen Öl stammen. Auch bei der IR-spektroskopischen Untersuchung treten neue Banden auf.

2. Identifizierung der Öle

Die in dieser Arbeit veröffentlichten gaschromatographischen und IR-spektroskopischen Ergebnisse wurden mit ätherischen Ölen ermittelt, die von den Chemischen Werken Tempelhof bezogen wurden. Vergleichsweise wurden auch Öle der Firmen Dragoco [x)] (Holzminden) und Harmann und Reimer [x)] (Holzminden) untersucht.

Bei der Identifizierung der Öle ist zu beachten, daß bei der Aufbereitung Neutralstoffe - wie Guajakolglycerinäther, Phenylbuttersäureguajakolester u. a. - mit übergehen können (S. 43). Bei der gaschromatographischen Identifizierung muß mit Vergleichssubstanzen gearbeitet werden, bei der IR-spektroskopischen Identifizierung können als Vergleich die Spektren (Band 2) der entsprechenden Substanzen verwendet werden.

2.1. Gaschromatographische Identifizierung

2.1.1. Arbeitsweise

Die auf etwa einen ml eingeengte Lösung der ätherischen Öle in Pentan wird durch Handwärme soweit eingedampft, daß die gesamte Lösung (etwa 5 - 7 µl) mit einer Hamilton-Spritze aufgenommen werden kann, um dann eingespritzt zu werden.

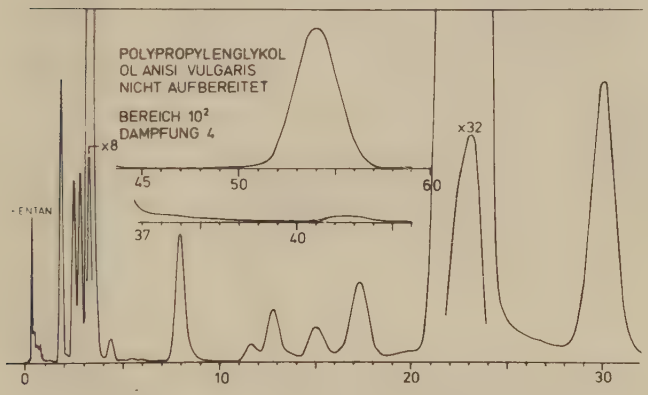
---

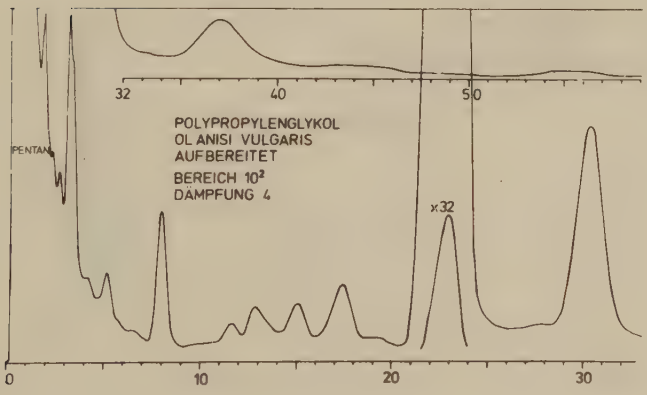
x) Für die Überlassung von Proben der in dieser Arbeit angeführten Vergleichssubstanzen danke ich den Firmen Dragoco (Holzminden) und Harmann und Reimer (Holzminden).

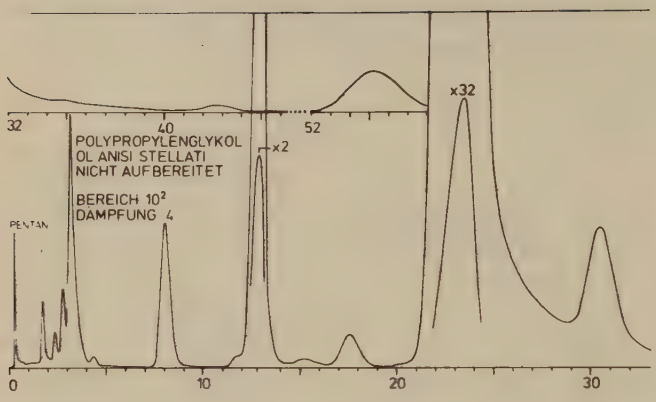
Gerät:	F und M, Modell 810
Säule:	8 feet mal 1/8 inch, 10 Proz. Polypropylenglykol auf Chromosorb G AWDMCS 80/100 mesh. Eine neue Säule muß mindestens 8 Tage bei 140 °C ausgeheizt werden. Die Trennleistung wird dadurch wesentlich verbessert und die Nullinie ist bei isothermer Arbeitsweise nach dieser Zeit konstant.
Trägergas:	Stickstoff, 65 ml/Min. bei 25 °
Detektor:	FID
Temperatur:	
Säule:	150 °C, ± 3 °
Detektor:	210 °
Einspritzblock:	210 °
Probenmenge:	5 - 7 µl Lösung des Öls in Pentan, bei Vergleichssubstanzen 5µl einer etwa 0,2 Proz. Lösung in Pentan. Die Flamme des Detektors wird von größeren Pentanmengen ausgelöscht, es muß neu gezündet werden.
Verstärkung der Peaks:	Einige Substanzen sind trotz sehr geringer Konzentration im Öl sehr charakteristisch. Es ist daher günstig, das Chromatogramm mit großer Verstärkung aufzunehmen und diese gegebenenfalls herunter zu schalten. Falls mit geringer Verstärkung gearbeitet wird, erfolgt die Identifizierung vor allem über die Hauptinhaltsstoffe.

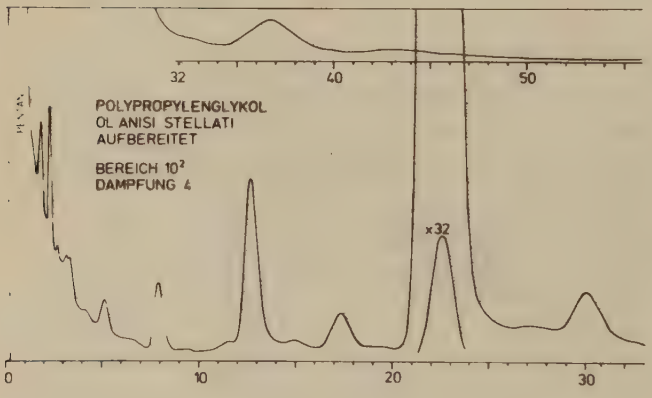
2.1.2. Chromatogramme der nicht aufbereiteten und aufbereiteten Öle (Polypropylenglykol-Säule).

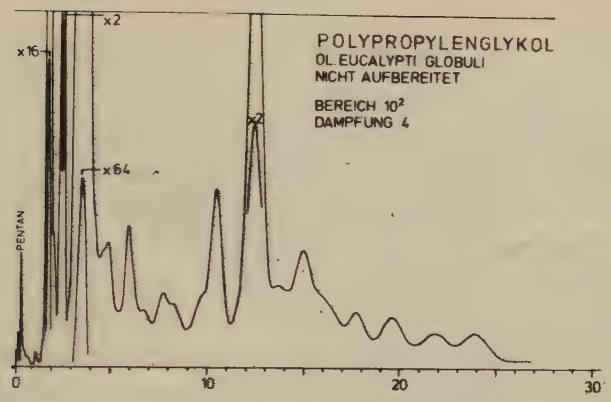
Die auf den Chromatogrammen angegebenen Zahlen sind die Retentionszeiten (unkorrigiert) in Minuten.

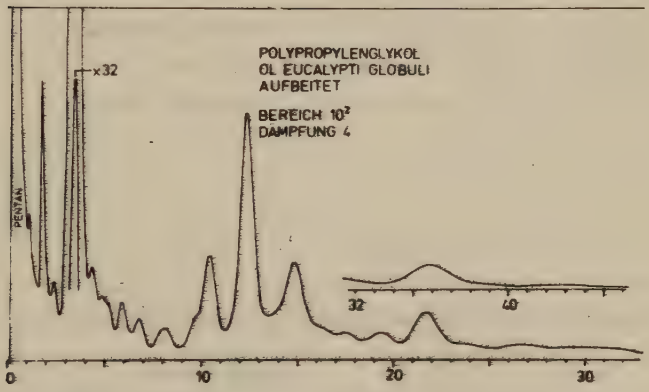


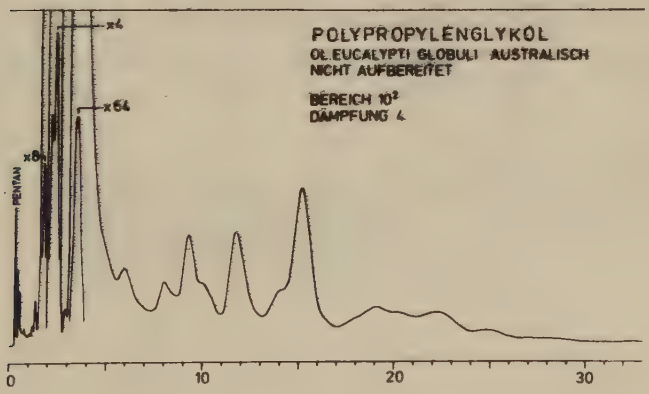


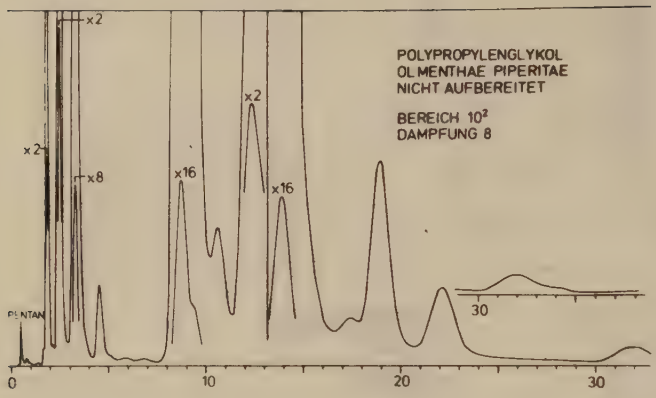

32
40
52
POLYPROPYLENGLYKOL
OL ANISI STELLATI
NICHT AUFBEREITET
BEREICH 10²
DAMPFUNG 4
PENTAN
x2
x32
0
10
20
30

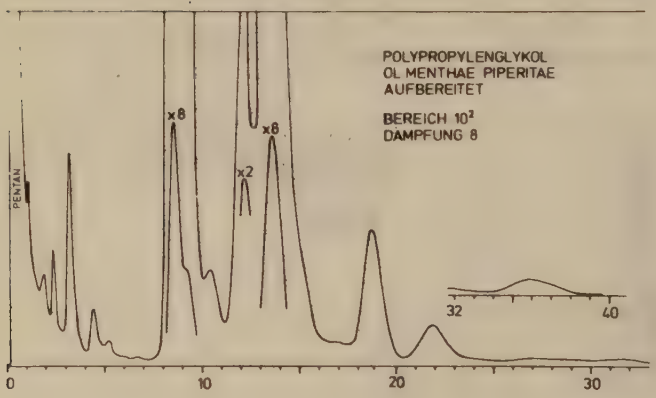

32
40
50
POLYPROPYLENGLYKOL
OL ANISI STELLATI
AUFBEREITET
BEREICH 10²
DAMPFUNG 4
x32
0
10
20
30


POLYPROPYLENGLYKOL
OL. EUCALYPTI GLOBULI
NICHT AUFBEREITET
BEREICH 10^2
DAMPFUNG 4
x2
x16
x64
PENTAN
0
10
20
30


POLYPROPYLENGLYKOL
OL EUCALYPTI GLOBULI
AUFBEITET
BEREICH 10^2
DAMPFUNG 4
x32
PENTAN
32
40
0
10
20
30


POLYPROPYLENGLYKOL
OL.EUCALYPTI GLOBULI AUSTRALISCH
NICHT AUFBEREITET
BEREICH 10^2
DAMPFUNG 4
x4
x64
x8
PENTAN
0
10
20
30


POLYPROPYLENGLYKOL
OL MENTHAE PIPERITAE
NICHT AUFBEREITET
BEREICH 10^2
DAMPFUNG 8
x2
x2
x8
x16
x2
x16
PENTAN
30
0
10
20
30


POLYPROPYLENGLYKOL
OL MENTHAE PIPERITAE
AUFBEREITET
BEREICH 10^2
DAMPFUNG 8
x8
x8
x2
PENTAN
32
40
0
10
20
30

2.1.3 Tabelle mit Retentionszeiten und -volumina

Nur Substanzen, die sich eindeutig trennen lassen, sind durch Querstriche getrennt (nachgewiesen durch Einspritzen von Gemischen verschiedener Öle und Gemischen von Ölen mit Reinsubstanzen). Gegen Ende des Chromatogramms werden, durch die isotherme Arbeitsweise bedingt, die Peaks immer breiter und die Differenzen der Retentionszeiten zweier Peaks müssen größer sein, wenn eine Trennung erreicht werden soll. Unterschiede in den Retentionszeiten einzeln chromatographierter Vergleichssubstanzen und den entsprechenden Bestandteilen ätherischer Öle ergeben sich durch deren unterschiedliche Konzentration. Der Beweis dafür, daß es sich um die gleiche Retentionszeit handelt, wurde immer durch Zugabemethode (Einspritzen von Vergleichssubstanz und Probe) geführt. Diese Methode kann auch zur Bestätigung von Vermutungen bei der Identifizierung unbekannter Öle dienen. Sie gibt jedoch keine Aussage darüber, ob noch andere Substanzen in diesen Ölen enthalten sind, die die gleiche Retentionszeit besitzen. Diese Aussage ist nur möglich durch Vergleich der Auftrennungen auf verschiedenen Säulen und durch Kopplung der Gaschromatographie mit der IR-, NMR- und Massen-Spektroskopie. Wurde für eine Vergleichssubstanz und die Substanz eines Öles die gleiche Retentionszeit ermittelt, so heißt das nicht, daß beide Substanzen identisch sind (z. B. ist Menthylisovalerianat sicher nicht in Anisölen enthalten). Es wurden so folgende Retentionszeiten und -volumina ermittelt (die Retentionsvolumina sind Temperatur-korrigiert) [78]:

---

78) F. Leibnitz und H. G. Struppe, Handbuch der Gaschromatographie, Verlag Chemie, Weinheim, 1967, S. 42

t_r bezogen auf Pentan	V_r^T	Vergleichs-substanz	Oleum Euc. glob.	Menthae pip.	Anis. vulg.	Anis. stell.
0,95	55,7		+ (1)	+ (1)		
1,6	93,8	α-Pinen	+	+	+	+
2,0	117,3	Camphen	+ im austr. Öl	-	-	-
2,2	129,0	Myrcen, β-Pinen	+	+	+	+
2,55	149,5	-	-	-	+	+
3,05	178,8	-	-	-	+	+
3,25	190,6	Dipenten, Limonen	?	?	+ (2)	+ (3)
3,4	199,4	Eucalyptol (4)	+	+	-	-
4,0	234,5	-	-	-	+	+
4,1	240,4	-	+	-	-	-
4,25	249,2	-	-	+	-	-
4,65	272,7	-	+	-	-	-

t_r bezogen auf Pentan	V_r^T	Vergleichs-substanz	Oleum Euc. glob.	Menthae pip.	Anis. vulg.	Anis. stell.
4,95	290,2	-	+(5)	-	-	-
5,0	293,2	-	-	+	+	+
5,65	331,3	-	+	-	-	-
6,35	372,3	Sabinenhydrat	-	in einigen Ölen	-	-
6,55	384,1	-	+	-	-	-
7,8	457,4	-	-	-	+	+
7,9	463,2	-	+	-	-	-
7,95	466,2	Menthofuran	-		-	-
8,1	474,9	Menthon (8)	-		-	-
8,4	492,5		-	+	-	-
9,0	527,7	-	-	+ (6)	-	-
9,55	560,0	-	+ (7)	-	-	-
10,2	598,1	Isopulegol	+	+	-	-
11,45	671,4	-	-	-	+	+
12,1	709,5	-	+	+	-	-
12,4	727,1	Methylchavicol	-	-		

t_r	bezogen auf Pentan V_r^T	Vergleichssubstanz	Oleum Euc. glob.	Menthae pip.	Anis. vulg.	Anis. stell.
12,65	741,7		-	-	+	+
13,5	791,6	Menthol	-	+	-	-
13,8	809,2	Menthylacetat	-	(9)	-	-
14,6	856,1	-	+	-	-	-
14,9	873,7	Pulegon, d-1-Terpineol	-	-	+	-
17,25	1012	-	+	-	+	+
17,6	1032	1-Carvon	-	-	?	?
18,6	1091	-	-	+	-	-
19,15	1123	-	+ schwach	-	+ (10)	-
21,5	1261	-	+	-	-	-
21,7	1272	-	-	+	-	-
22,7	1331	Anethol	-	-	+	+
29,6	1736	Anisaldehyd	-	-	+	+
36,0	2111	-	+	+	-	-
37,7	2152	Menthylisovalerianat (11)	-	?	+	+
54	3166	-	-	-	(+)	(+)

Bemerkungen zu den Retentionszeiten einiger Substanzen:

Wenn aufgrund der unterschiedlichen Retentionszeiten von Vergleichssubstanzen und Bestandteilen ätherischer Öle und Überlagerung mit anderen Peaks keine Entscheidung darüber getroffen werden konnte, ob die Substanz im Öl enthalten ist oder nicht, fehlen Zeichen oder es wurde ein Fragezeichen angeführt.

(1) Bei diesem Peak handelt es sich wahrscheinlich um ein Artefakt, da er in natürlichen, nicht aufbereiteten Ölen nicht auftritt.

(2) Schulter des Peaks bei 3,05 Min.

(3) Wenn nur Anisöle vorliegen, ist dieser Peak von dem bei 3,05 Min. getrennt.

(4) In gleichen Konzentrationen ergeben Eucalyptol und Limonen einen Peak. Sind die Konzentrationen jeweils etwa 1:2, so lassen sich leichte Schultern erkennen.

(5) Schulter des Peaks bei 4,65 Min.

(6) Schulter des Peaks bei 8,4 Min.

(7) Schulter des Peaks bei 10,2 Min.

(8) Menthon und Menthofuran werden nicht getrennt; die Retentionszeit des im Öl enthaltenen Menthons ist durch dessen höhere Konzentration größer als die des Vergleichs-Menthons.

(9) Die hier angegebenen Substanzen lassen sich, trotz relativ großer Unterschiede der Retentionszeiten, nicht in Gegenwart von Ol. Menthae pip. trennen, da ihre Peaks mit dem großen und breiten Menthonpeak überlappen.

(10) Schulter zwischen den Peaks bei 17,25 und 22,7 Min.

(11) Die Reproduzierbarkeit der Retentionszeiten ist in diesem Bereich schwieriger als bei kurzen Retentionszeiten: Menthylisovalerianat zeigte zwar beim Vergleich seines Chromatogramms mit dem des Pfefferminzöles eine vergleichbare Retentionszeit, beim Zusatz von Menthylisovaerianat zu dem Öl überdeckten sich die Peaks jedoch nicht vollständig. Wahrscheinlich enthält der Peak bei 36 Min. (Ol. Menthae) noch eine oder mehrere andere Substanzen.

2.1.4. Auswertung und Identifizierung

Bei der Auswertung ist zu beachten, daß sich das Verhältnis leichtflüchtiger Inhaltsstoffe - z. B. α - und β -Pinen - zu schwerer flüchtigen stark verändert. Neben der Art der Aufbewahrung der Probe (s. S. 160) ist es wichtig, kein warmes Wasserbad und kein starkes Vakuum beim Abziehen des Pentans am Rotationsverdampfer zu verwenden. Unvorsichtiges Arbeiten kann zu vollständigem Fehlen der α- und β -Pinen und anderer Peaks führen. Die isotherme Arbeitsweise erlaubt eine einfache, halbquantitative Auswertung der Chromatogramme durch Multiplikation der Peakhöhe mit der Retentionszeit.

Oleum Anisi vulgaris und stellati:

Charakteristisch in beiden Ölen ist der große Gehalt an Anethol. Dieser Peak überdeckt sich zwar mit Peaks von Ol. Menthae und Eucalypti, ist jedoch durch seine große Intensität leicht zu identifizieren. Die Nebenbestandteile beider Anisöle zeigen eine ähnliche Zusammensetzung mit nur relativ geringen Konzentrationsunterschieden, die keine Unterscheidung der Öle ermöglichen. Es läßt sich also keine Aussage darüber treffen, aus welcher Stammpflanze das verwendete Anisöl hergestellt wurde. Charakteristisch für beide Öle ist der Peak von Anisaldehyd und ein nicht identifizierter Peak mit der Retentionszeit von 2,55 Min.. Beide Peaks zeigen keine Überlagerung mit anderen Peaks von Ol. Men-

thae und Eucalypti beim Chromatographieren von Mischungen der Öle. Zusammen mit dem Anethol-Peak gestatten sie daher die eindeutige Identifizierung von Anisölen.

Der Gehalt an α-Pinen ist in beiden Ölen etwas größer als der an β-Pinen.

Oleum Eucalypti:

Charakteristisch ist der große Gehalt an Eucalyptol. Dies ist zwar auch in Ol. Menthae enthalten und auch die beiden Anisöle zeigen Peaks ähnlicher Retentionszeit, die Intensität dieser Peaks ist jedoch vergleichsweise gering. Nach v. Schantz und Juvonen [62] soll in den drei letztgenannten Ölen auch Limonen enthalten sein, das sich jedoch auf der Polypropylenglykolsäule nicht von Eucalyptol trennt. Es läßt sich also nicht genau aussagen, welche Substanzen diese Peaks verursachen.

Das Verhältnis α-Pinen zu β-Pinen ist hier sehr groß im Verhältnis zu Ol. Menthae, wo es kleiner als eins ist. Dies Charakteristikum gilt bei entsprechender Vorsicht (s. S. 172) auch für aufbereitete Öle. Charakteristisch ist ein kleiner Peak bei 5, 65 Min., der in allen Eucalyptus-Ölen verschiedener Herkunft auftritt und eine Identifizierung erlaubt. Die übrigen Nebenbestandteile sind recht uncharakteristisch - wie der Vergleich mit dem Chromatogramm eines Öls australischer Herkunft (Fa. Harmann und Reimer) zeigt. Auffallend ist der große Camphengehalt in dem australischen Öl und das vollständige Fehlen von Isopulegol.

Oleum Menthae piperitae:

Dieses Öl ist zu gut zu identifizieren durch die etwa gleich starken Peaks von Menthon und Menthol (die sich jedoch noch mit Peaks anderer Substanzen, z. B. Menthofuran überlagern) und den Peak von Isopulegol, das aber auch in Eucalyptus-Ölen enthalten sein kann. Charakteristisch ist ferner ein nicht identifizierter Peak bei 18, 6 Min.

und der Peak von Sabinenhydrat, falls es im Öl enthalten ist: Sabinenhydrat ist zu 0 - 0,5 Proz. in Menthae piperitae Ölen enthalten. Das hier untersuchte Öl zeigt keinen Gehalt an Sabinenhydrat, andere Öle zeigen jedoch in ihrem Chromatogramm einen Peak bei 6,35 Min.

Der Anteil an α-Pinen liegt bei allen untersuchten aufbereiteten und nicht-aufbereiteten Ölen etwas niedriger als der an β-Pinen. Menthofuran - ein sehr charakteristischer Bestandteil von Menthae piperitae Ölen - läßt sich auf der Polypropylenglykolsäule nicht von Menthon trennen.

2.1.5. Vergleichschromatogramme der aufbereiteten Öle (SE 30 Säule)

Zum Vergleich wurde auf einer unpolaren SE 30-Säule (Silikonöl) am selben Gerät gearbeitet.

Säule: 6 feet mal 1/8 inch, 10 Proz. SE 30 auf Chromosorb G AWDMCS 80/100 mesh. Diese Säule kann nach relativ kurzem Aufheizen benutzt werden.

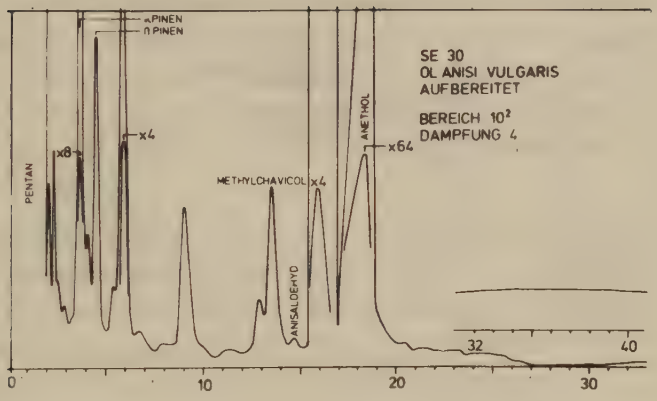
Trägergas: Stickstoff, 56 ml/Min. bei 25 °C

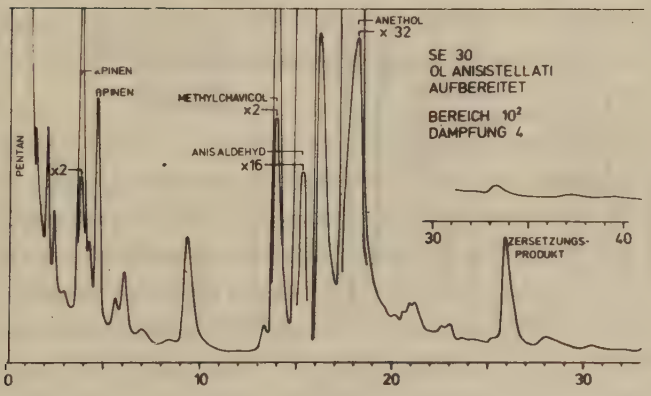
Temperatur:

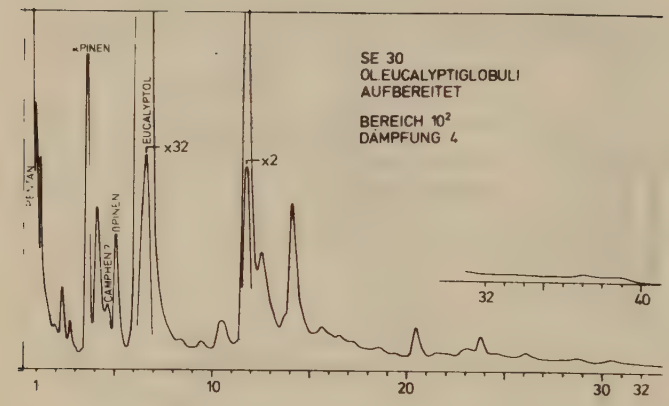
Säule programmiert:
Beginn 85 °C, diese Temperatur wird 8 Min. lang konstant gehalten. Dann wird mit einer Rate von 4 °/Min. bis zur Endtemperatur von 150 ° aufgeheizt, die dann bis zum Ende des Chromatogramms konstant gehalten wird.

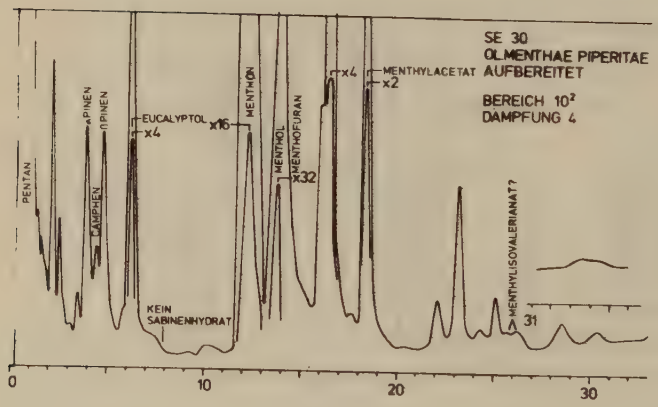
Die übrigen Bedingungen sind die gleichen wie beim Arbeiten mit der Polypropylenglykolsäule.

Abbildungen: Aus Platzgründen sind nur die Chromatogramme der aufbereiteten Öle wiedergegeben.


«PINEN
ß PINEN
PENTAN
x8
x4
METHYLCHAVICOL x4
ANISALDEHYD
ANETHOL
x64
SE 30
OL ANISI VULGARIS
AUFBEREITET
BEREICH 10²
DAMPFUNG 4
32
40
0
10
20
30


ANETHOL
x 32
«PINEN
ßPINEN
METHYLCHAVICOL
x2
ANISALDEHYD
x16
PENTAN
x2
SE 30
OL ANISSTELLATI
AUFBEREITET
BEREICH 10²
DAMPFUNG 4
30
40
ZERSETZUNGS-
PRODUKT
0
10
20
30


αPINEN
EUCALYPTOL
x32
x2
SE 30
OL EUCALYPTIGLOBULI
AUFBEREITET
BEREICH 10²
DÄMPFUNG 4
32
40
1
10
20
30
32


PENTAN
αPINEN
βPINEN
CAMPHEN
EUCALYPTOL
x16
x4
KEIN
SABINENHYDRAT
MENTHON
MENTHOL
MENTHOFURAN
x32
x4
MENTHYLACETAT
x2
MENTHYLISOVALERIANAT?
SE 30
OL MENTHAE PIPERITAE
AUFBEREITET
BEREICH 10²
DÄMPFUNG 4
31
0
10
20
30

Beurteilung der Säule:

Die Trennleistung der SE 30-Säule ist wesentlich besser als die der Polypropylenglykol-Säule, die jedoch den Vorteil der Selektivität gegenüber den Trennungen einiger Substanzen besitzt wie z. B. der Menthon-Menthol-Trennung, die auf der SE 30-Säule direkt nacheinander eluiert werden oder der Trennung Anisaldehyd-Anethol (auf der SE 30-Säule wird Anisaldehyd vor, auf der Polypropylenglykol-Säule nach Anethold eluiert).

Die bessere Trennleistung der SE 30-Säule bringt jedoch keine besseren Trennungen der charakteristischen Peaks. Z. B. läßt sich Menthofuran auch auf dieser Säule nicht abtrennen, es zeigt jedoch nicht wie auf der Polypropylenglykolsäule die gleiche Retentionszeit wie Menthon, sondern sein Peak fällt mit dem Menthol-Peak zusammen.

Es lassen sich trotz größerer Trennstufenzahl der SE 30-Säule keine exakteren Aussagen zur Identifizierung und Unterscheidung der untersuchten ätherischen Öle treffen. Eher wirkt die größere Zahl von Peaks unübersichtlich und erschwert so eine schnelle Identifizierung. Es wurden daher keine Retentionszeiten bestimmt und auch die Identifizierung der Peaks der Öle mit Vergleichssubstanzen nur teilweise vorgenommen.

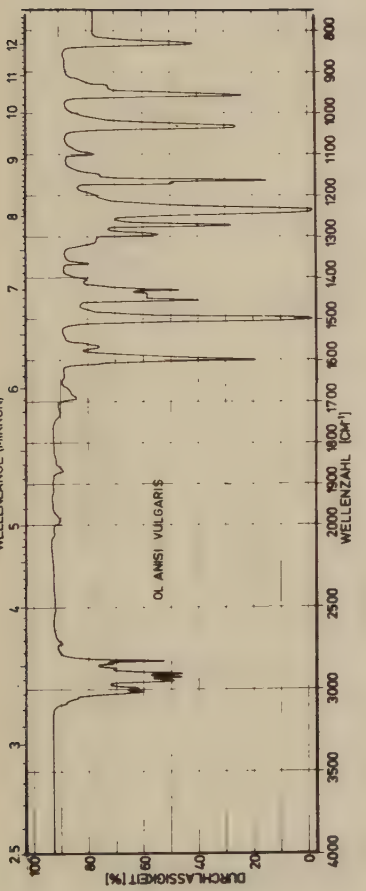
Die Chromatogramme der nicht aufbereiteten Öle sind hier nicht angegeben, es treten jedoch im wesentlichen die gleichen Peaks auf, wie bei den aufbereiteten Ölen. Bei diesen fallen am Pentan-Peak mehrere kleine Peaks auf, die weder bei den nicht aufbereiteten Ölen auftreten, noch beim Einspritzen reinen Pentans. Es liegt so der Schluß nahe, daß es sich um leichtflüchtige, bei der Aufbereitung entstandene Artefakte handelt (s. S. 171 , Peak bei 0, 95 Min.). Ebenfalls um ein Artefakt muß es sich bei der Substanz mit der Retentionszeit von 26 Min. handeln, die beim Chromatogramm des Ol. Anis. stell. auftritt. Dieser Peak fehlt bei den nicht aufbereiteten Anisölen, wurde jedoch auch bei einem durch Wärme etwas zersetzten Öl von Anis. vulg. beobachtet.

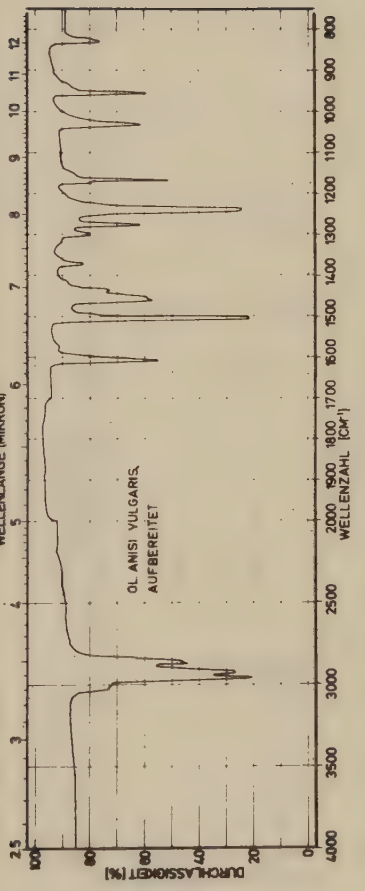
2.2. IR-spektroskopische Identifizierung

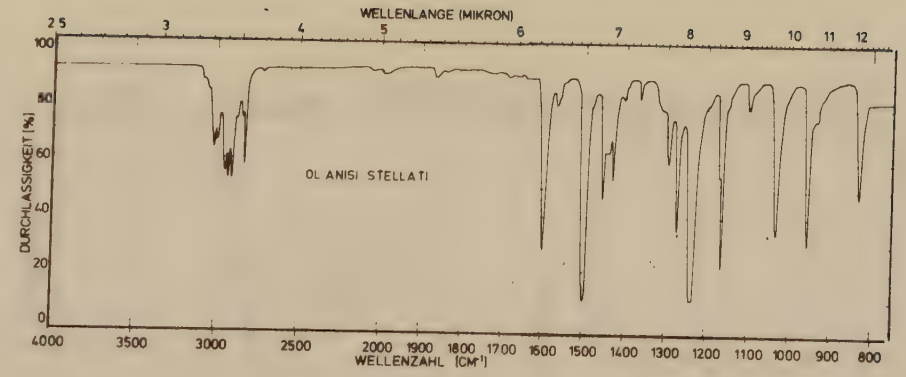
Die Identifizierung der Öle kann auch mit Hilfe der IR-Spektroskopie vorgenommen werden:

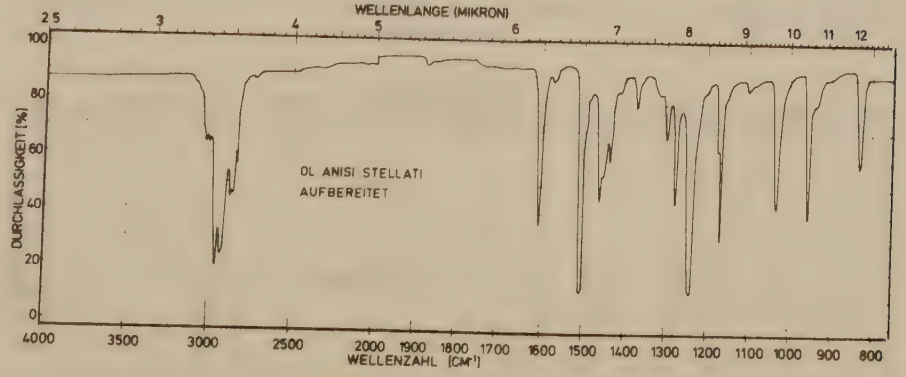
Gerät: Perkin Elmer 421, die Öle werden in Tetrachlorkohlenstoff gemessen.

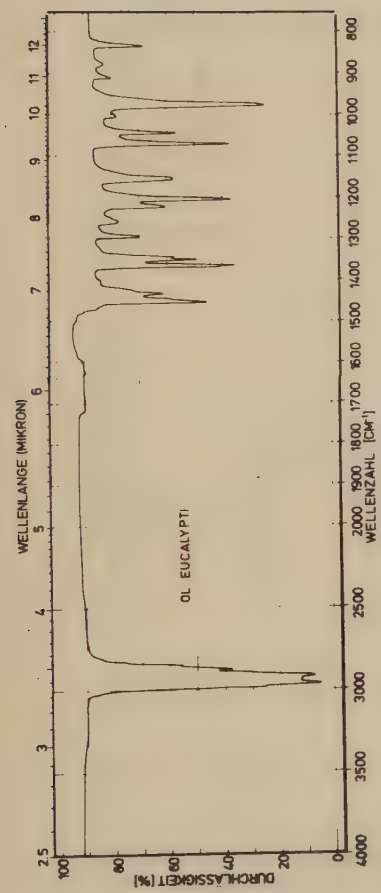
Abbildungen: IR-Spektren der nicht aufbereiteten und aufbereiteten Öle

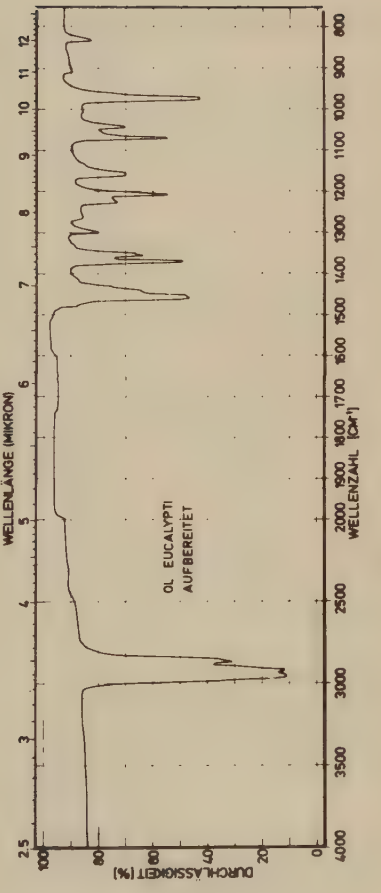

WELLENLANGE (MIKRON)
2.5 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12
DURCHLASSIGKEIT (%)
100 80 60 40 20 0
OL ANISI VULGARIS
WELLENZAHL (CM⁻¹)
4000 3500 3000 2500 2000 1900 1800 1700 1600 1500 1400 1300 1200 1100 1000 900 800

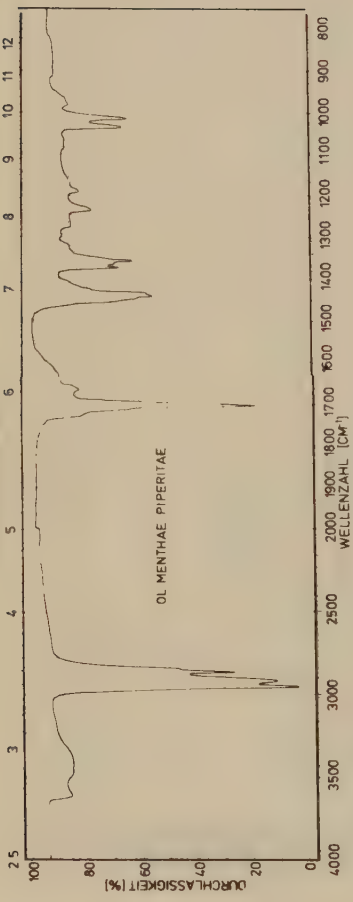

WELLENLANGE (MIKRON)
2.5 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12
DURCHLASSIGKEIT (%)
100 80 60 40 20 0
OL ANISI VULGARIS
AUFBEREITET
WELLENZAHL (CM⁻¹)
4000 3500 3000 2500 2000 1900 1800 1700 1600 1500 1400 1300 1200 1100 1000 900 800

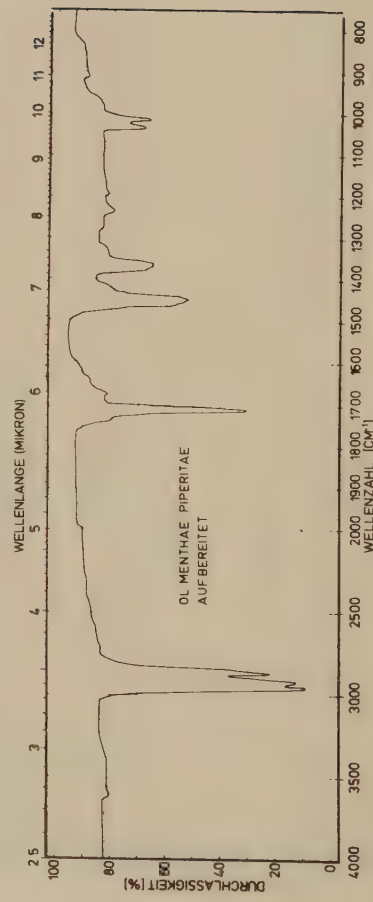

WELLENLANGE (MIKRON)
2.5
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
100
50
60
40
20
0
DURCHLASSIGKEIT [%]
OL ANISI STELLATI
4000
3500
3000
2500
2000
1900
1800
1700
1600
1500
1400
1300
1200
1100
1000
900
800
WELLENZAHL [CM⁻¹]


WELLENLANGE (MIKRON)
2.5
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
100
80
60
40
20
0
DURCHLASSIGKEIT [%]
OL ANISI STELLATI
AUFBEREITET
4000
3500
3000
2500
2000
1900
1800
1700
1600
1500
1400
1300
1200
1100
1000
900
800
WELLENZAHL [CM⁻¹]


WELLENLÄNGE (MIKRON)
2.5
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
DURCHLÄSSIGKEIT [%]
100
80
60
40
20
0
OL EUCALYPTI
2000 1900 1800 1700 1600 1500 1400 1300 1200 1100 1000 900 800
WELLENZAHL [CM⁻¹]
4000 3500 3000 2500


WELLENLÄNGE (MIKRON)
2.5
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
DURCHLÄSSIGKEIT [%]
100
80
60
40
20
0
OL EUCALYPTI
AUFBEREITET
2000 1900 1800 1700 1600 1500 1400 1300 1200 1100 1000 900 800
WELLENZAHL [CM⁻¹]
4000 3500 3000 2500


WELLENLANGE (MIKRON)
2 5
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
100
80
60
40
20
0
DURCHLASSIGKEIT [%]
OL MENTHAE PIPERITAE
4000
3500
3000
2500
2000
1900
1800
1700
1600
1500
1400
1300
1200
1100
1000
900
800
WELLENZAHL [CM⁻¹]


WELLENLANGE (MIKRON)
2 5
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
100
80
60
40
20
0
DURCHLASSIGKEIT [%]
OL MENTHAE PIPERITAE
AUFBEREITET
4000
3500
3000
2500
2000
1900
1800
1700
1600
1500
1400
1300
1200
1100
1000
900
800
WELLENZAHL [CM⁻¹]

Die Spektren zeigen, daß sich die aufbereiteten wenig oder gar nicht von den nicht aufbereiteten Ölen unterscheiden. Charakteristisch sind folgende Banden (angegeben in Frequenzeinheiten cm^{-1}):

Ol. Anis. vulg. und stell.:

1600, 1570, 1500	C = C Valenzschwingung des Aromaten
830	(v. a. Anethol) C-H-"out of plane"-Schwingung p-disubstituierter Aromaten (v. a. Anethol)

Ol. Eucalypti:

1470	Diese Bande tritt auch bei reinem Eucalyptol auf, konnte jedoch nicht genau zugeordnet werden, in diesem Bereich treten u. a. C-C-Valenzschwingungen von Alkanen auf.
1070	C-O-Valenzschwingung der Äthergruppe

Ol. Menthae pip.:

3400-3200	breite, wenig intensive Bande, O-H-Valenzschwingung von Alkoholen (v. a. Menthol).
1710	Bande entsteht durch Überlagerung der C=O-Valenzschwingung von Menthylestern (1715 x)) und von Menthon (1705 x))

x) Diese Werte wurden durch Aufnahme der IR-Spektren der Reinsubstanzen ermittelt.

Charakteristisch für Ol. Menthae pip. sind Banden bei 762 und v. a. bei 730, die durch Absorption von Menthofuran verursacht werden. x) Sie können jedoch nur bei Aufnahme der Öle als dünner Film mit nicht zu geringen Schichtdicken registriert werden. Bei Lösungen der Öle in Tetrachlorkohlenstoff fallen diese Banden auf den Spektren nicht auf. xx)

---

x) Ich danke Herrn Dr. Farnow (Fa. Dragoco) für diesen wertvollen Hinweis.

xx) Da dieser langwellige Teil der Spektren bei allen Ölen keine charakteristischen Banden zeigt, wurde er nicht mit abgebildet.

IV Anwendung des systematischen Trennungsganges am Beispiel der Analyse eines Hustensaftes

Zur Untersuchung lag der Hustensaft "Optipect" ohne Codein der Firma Thiemann vor.

Die Zusammensetzung dieses Präparates laut "Rote Liste" 1969 [79] ist folgende:

mg Substanz in 10 ml Hustensaft

Ammoniumchlorid	26,8	Extr. Thymi fld.	71,4
Campher	2,8	Glycyrrhiza-Extrakt ammoniakalisch	15,4
Aminophenazon	28,4	Ol. Eucalypti	1,0
Ephedrin-HCl	5,6	Ol. Menthae pip.	1,8
Menthol	4,6	Ol. Salviae	0,2
Liq. Amm. Caust.	13,2	Saponin	6,6

Außerdem enthält das Präparat nach Angaben des Herstellers noch folgende Substanzen als Geschmackskorrigentien bzw. Hilfsstoffe:

ungefähre Menge Substanz (mg) in 10 ml Hustensaft:

Saccharin-Natrium	4	Ol. Anis. (keine Angabe über Stammpflanze)	3
Zucker	45	Ol. Foeniculi	3
Polyoxyäthylensorbitanlaureat	12		
p-Hydroxybenzoesäureäthylester	10		

---

79) Editio Cantor Aulendorf

A Extraktion und dünnschichtchromatographische Identifizierung der Inhaltsstoffe

Die Extraktion und dünnschichtchromatographische Identifizierung erfolgte anhand der Vorschriften des Trennungsganges.

Bei der Extraktion entstanden starke Emulsionen, die durch Zentrifugieren getrennt werden konnten.

HCl-Fraktion

a = selbstgestrichene Platten (Schichtdicke 0,25 mm)

f = Fertigplatten

	hR_f-Werte Fließmittel			
Probe	1 f [x]	2 f	3 f	4 a
Optipect	56	47	36	0
	62	54	61	33
Aminophenazon	62	51	35	34
p-Hydroxybenzoesäureäthylester	57	45	60	0
Polyoxyäthylensorbitanlaureat	0	0	0	0
Saccharin	0	0-24	32	0

Die Detektion erfolgte mit UV-Licht, Reagenz 2 (Joddampf) und Reagenz 3 (Kaliumpermanganat).

Saccharin und Polyoxyäthylensorbitanlaureat konnten in der HCl-Fraktion der Optipect-Probe nicht nachgewiesen werden.

---

x) Die für Aminophenazon mit diesem Fließmittel ermittelten Werte weichen stark von den in der Tabelle angegebenen (s. S. 76) ab. An dem Tag, an dem dieser Versuch durchgeführt wurde, lag die Raumtemperatur um 30 °C. (Über den Einfluß der Temperatur auf hR_f-Werte s. S. 28 .) Bei einer Wiederholung an einem anderen Tag (Raumtemperatur 23 °) ergab sich dann für Aminphenazon ein hR_f-Wert von 45.

WS-Fraktion:

Der Extrakt der WS-Fraktion wurde mit Fließmittel 2 getrennt, das auch beim Bearbeiten der HCl-Fraktion verwendet wurde. Es zeigten sich wieder zwei Flecke mit den gleichen hR_f-Werten wie bei der HCl-Fraktion, die Aminphenazon und p-Hydroxybenzoesäureäthylester zuzuordnen sind. Die anderen Fließmittel der WS-Fraktion wurden nicht verwendet.

NaOH- und NH_3-Fraktion:

	hR_f-Werte		
	Fließmittel		
Probe	8 a	9 f	10 f
Optipect	18	25	10
			42
Ephedrin	19	25	11
			42

Die Detektion erfolgte mit Reagenz 2, 3 und 8 (Ninhydrin). Auf den basischen Aluminiumoxyd-Platten, die zum Entwickeln mit Fließmittel 8 verwendet wurden, gelang der Nachweis mit Ninhydrin-Reagenz nicht so gut wie auf den Kieselgelfertigplatten.

WR Wässriger Rückstand :

Der Rückstand wurde am Rotationsverdampfer eingeengt. Nach dem Abkühlen setzte sich ein glasiger, farbloser Rückstand ab, der sich etwas in Methanol und dann mit Wasser unter Erwärmen löste. Beide Lösungen wurden aufgetragen. Wie die Ergebnisse zeigen, bestand dieser Rückstand aus Saccharose.

hR_f-Werte

Fließmittel

Probe	11 a	12 f	13 f
Optipect:			
methanol. Lsgn.	19	0	45
wässr. Lsgn.	22	0	46
ammoniak. Glycyrrhiza-Extrakt	0 96	0 74	70
Saccharose	18	0	45

Die Detektion erfolgte mit Reagenz 2, 13 (Naphthalindiol) und 14 Bleitetraacetat, Fuchsin).

Bestandteile des Glycyrrhiza-Extraktes waren im Rückstand der Optipect-Probe nicht nachzuweisen.

Chromatographisch identifiziert:

Aminophenazon, p-Hydroxybenzoesäureäthylester, Ephedrin und Saccharose.

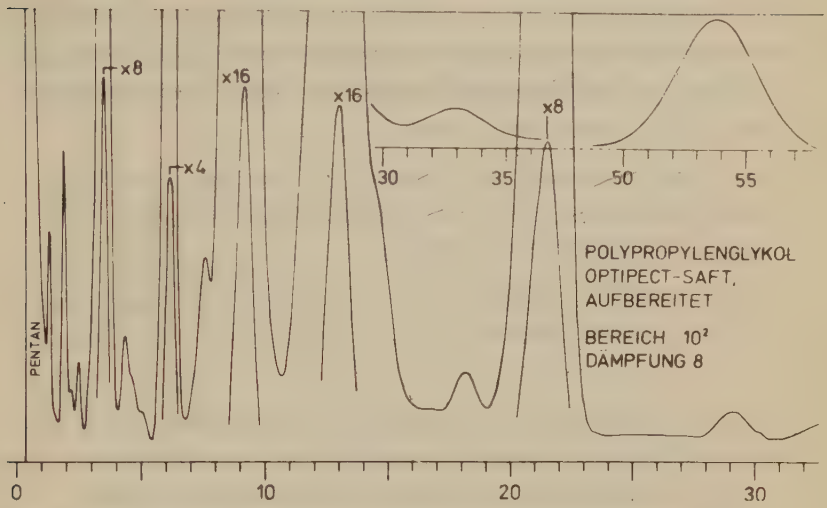
B Extraktion und Identifizierung der ätherischen Öle

Zum Ionenaustausch und zur Perforation wurden etwa 60 ml Saft eingesetzt, da die Konzentration der einzelnen ätherischen Öle im Optipect-Saft sehr gering ist. Die Probe wurde nach der Vorschrift des Trennungsganges aufbereitet und sofort gaschromatographisch mit der Polypropylenglykolsäule untersucht.

Zum Vergleich wurde eine von der Hersteller-Firma zur Verfügung gestellte Probe untersucht, die alle Bestandteile außer den fünf ätherischen Ölen enthielt und außerdem die zur Herstellung von Optipect verwendeten Salbei- und Fenchelöle. x)

x) Ich danke der Firma Thiemann für die Überlassung dieser Proben

Abbildung: Chromatogramm des aufbereiteten Optipect-Saftes



Das Chromatogramm wurde bei einer Ofentemperatur aufgenommen, die etwa zwei Grad höher lag, als die, bei der die Retentionszeiten der Öle ermittelt wurden (s. S. 162). Bereits diese relativ geringe Abweichung der Temperatur bewirkt eine Verminderung der Retentionszeiten um 0, 8 (Menthol) und 1, 6 Min. (Anethol).

Die hier genannten Retentionszeiten sind direkt aus dem Chromatogramm abgelesen und nicht auf Pentan bezogen:

Das Verhältnis α-Pinen zu β-Pinen ist etwas zum β-Pinen hin verschoben. Auch Fenchel- und Salbeiöl enthalten etwa gleich große Mengen dieser Substanzen.

Der Eucalyptol-Peak ist sehr stark; Pfefferminzöl enthält Eucalyptol, vor allem aber Salbeiöl enthält größere Mengen dieser Substanz, so daß von der Stärke des Peaks her nicht auf die Anwesenheit von Eucalyptusöl geschlossen werden kann.

Der starke Peak bei 6 Min. wird durch eine Komponente aus dem Fenchelöl verursacht und überdeckt den charakteristischen Peak von

Eucalyptusölen bei einer relativen Retentionszeit von 5, 65 Min..

Dem Menthonpeak (Pfefferminzöl) überlagert sich der Peak einer Substanz mit größerer Retentionszeit, die aus dem Salbeiöl stammt und das Maximum des durch Überlagerung entstandenen Peaks zu größeren Retentionszeiten hin verschiebt.

Durch die Anwesenheit dieser Substanz aus dem Salbeiöl wird auch der für Pfefferminzöle charakteristische Isopulegol-Peak (rel. Retentionszeit 10, 2 Min.) überdeckt.

Der Mentholpeak überlagert sich nur wenig dem Peak einer anderen, aus dem Salbeiöl stammenden Substanz, der als schwache Schulter bei 14, 5 Min. auftritt.

Das für die Anwesenheit von Anisölen charakteristische Anethol (hier bei 21, 4 Min.) ist auch im Fenchelöl in großen Mengen enthalten. Ebenso ist Anisaldehyd (hier bei 29 Min.) ein Bestandteil beider Öle.

Der Peak bei 33 Min. wird durch eine Substanz des Salbeiöls verursacht, ist aber auch im Chromatogramm der Optipect-Probe ohne ätherische Öle vorhanden.

Auch der Peak bei 53, 8 Min. ist in dem Chromatogramm dieser Optipect-Probe enthalten.

Da ätherische Öle oft die gleichen Substanzen nur in unterschiedlichen Konzentrationen enthalten, ist es überaus schwierig, bei einer solch komplexen Mischung von Ölen, wie sie in Optipect-Saft enthalten sind, noch Aussagen über eine Identifizierung der Öle zu treffen. Da außerdem dem Präparat noch Menthol als Reinsubstanz zugefügt ist, kann selbst auf die Anwesenheit von Pfefferminzöl nicht eindeutig geschlossen werden. Es ist so nur möglich, die Substanzen, die getrennt werden können, anzugeben, aber nicht welcher Kombination, das heißt, welchem Öl sie zuzuordnen sind. Vielleicht ließe sich durch ausführliche

Studien über die quantitativen Verhältnisse aller Komponenten genauere Aussagen treffen. Da die quantitative Zusammensetzung der Öle jedoch auch je nach Herkunft und Witterung variieren kann, ist dies sicher eine recht schwierige Aufgabe, die eine entsprechende Einarbeitung verlangt.

Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit der Analyse flüssiger Hustenmittel. Nach Erfassen der Zusammensetzung handelsüblicher gängiger Hustensäfte und -tropfen wurden zwei Verfahren ausgearbeitet zur Isolierung und Identifizierung der Inhaltsstoffe.

Beim ersten Verfahren (Band 1) werden die Substanzen durch Extraktion nach einem modifizierten Stas-Otto-Gang in 5 Fraktionen aufgeteilt. Die Zusammensetzung dieser Fraktionen wird mit Hilfe der Dünnschichtchromatographie ermittelt. Für alle Substanzen sind kurze Monographien angegeben (Band 2). Diese informieren über das Verhalten der Substanzen im variierten Stas-Otto-Gang, enthalten Angaben über Schmelz- und Siedepunkte sowie Abbildungen der Strukturformeln und der UV-, IR- und NMR-Spektren. Die Spektren können zur zusätzlichen Sicherung der dünnschichtchromatographisch ermittelten Ergebnisse dienen. Um eine schnellere Zuordnung treffen zu können, sind im zweiten Band außerdem Tabellen mit den UV-Maxima und den wichtigsten IR-Absorptionen wiedergegeben sowie die Interpretationen der NMR-Spektren. Einige spezielle Probleme, die bei der Extraktion und dünnschichtchromatographischen Identifizierung der bearbeiteten Substanzen auftraten, sind im ersten Band gesondert beschrieben.

Das zweite Verfahren (Band 1) dient zur Aufbereitung und Identifizierung ätherischer Öle. Dazu wurde eine neue Methode ausgearbeitet, die mit Hilfe von Ionenaustauschern und anschließender Perforation mit Pentan eine weitgehende Trennung ätherischer Öle von den meist basischen und auch sauren Arzneistoffen ermöglicht. Lediglich relativ unpolare Arzneistoffe werden noch in nennenswertem Ausmaß mitextrahiert. Die Identifizierung der so aufbereiteten Extrakte kann gaschromatographisch oder mit Hilfe der IR-Spektroskopie erfolgen. Die entsprechenden Gaschromatogramme und IR-Spektren sind in Band 1 abgebildet.

Anschließen wird der in dieser Arbeit ausgearbeitete Trennungsgang am Beispiel der Analyse eines Hustensaftes mit einer größeren Zahl von Arznei- und Hilfsstoffen.

Fräulein Dagmar Sonne möchte ich für ihre gewissenhafte interessierte Mitarbeit danken, besonders bei den photometrischen Messungen und den Versuchen über die Reproduzierbarkeit von dünnschichtchromatographischen Ergebnissen.

LEBENSLAUF

Am 11. Mai 1942 wurde ich als Tochter des Dozenten der Staatswissenschaften, Dr. Günther Stockmann, und seiner Ehefrau Paula, geb. Heyer, in Tübingen geboren. Nach dreijährigem Aufenthalt in Tetschen-Bodenbach (Sudetenland) wurde meine Familie 1945 von dort ausgewiesen. Wir gingen nach Tübingen zurück.

Vom Herbst 1949 bis Frühjahr 1951 besuchte ich die Volksschule in Tübingen und anschließend das Wildermuth-Gymnasium (Math. -Nat. -Zweig), an dem ich im März 1961 die Reifeprüfung ablegte.

Im Sommersemester 1961 begann ich mit dem Studium der Chemie an der Technischen Hochschule Stuttgart. Zum Wintersemester 1961/62 ging ich zur Philipps-Universität nach Marburg, um dort Lebensmittelchemie zu studieren. Am 31.10.1964 legte ich die Vorprüfung als Lebensmittelchemiker ab. Anschließend setzte ich mein Studium an der Technischen Universität Berlin fort, verbunden mit einer 1 1/2 jährigen Praktikantentätigkeit an der Landesanstalt für Lebensmittel-, Arzneimittel- und gerichtliche Chemie in Berlin. Diese Tätigkeit unterbrach ich für das Sommersemester 1965, um am physikalisch-chemischen Praktikum am Max-Volmer-Institut der Technischen Universität teilzunehmen und meine Kenntnisse der organischen Chemie zu vertiefen. Am 4.7.1967 schloß ich mein Studium mit der Hauptprüfung als Lebensmittelchemiker ab.

Im September 1967 begann ich unter Anleitung von Herrn Prof. Dr. F. Eiden mit der vorliegenden Dissertation. Gleichzeitig wurde ich als Tutor bzw. Hilfsassistent an der Freien Universität Berlin angestellt. Seit dem 1.6.1969 bin ich als wissenschaftlicher Assistent tätig.

Ich bin seit dem 3.8.1966 verheiratet mit dem Dipl. Ingenieur der Elektrotechnik Wakkas Khammash.

B. Ladewig · Dissertationsdruck · 1 Berlin 12 · Pestalozzistr. 105 · Tel. 318885